

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
CURSO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DE MILHO À
ANTRACNOSE DO COLMO

DÉBORA DA SILVA MÁXIMO

PONTA GROSSA

2013

DÉBORA DA SILVA MÁXIMO

CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DE MILHO À
ANTRACNOSE DO COLMO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual
de Ponta Grossa para obtenção do título de Mestre
em Agronomia, área de concentração Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello

PONTA GROSSA

2013

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Máximo, Débora da Silva

M464 Controle genético da resistência de
 milho à antracnose do Colmo/ Débora da
 Silva Máximo. Ponta Grossa, 2013.
 74f.

 Dissertação (Mestrado em Agronomia -
 Área de Concentração: Agricultura),
 Universidade Estadual de Ponta Grossa.

 Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues
 Matiello.

 1.Variabilidade genética. 2.Linhagens
 resistentes. 3.Colletotrichum graminicola
 e ação gênica. I.Matiello, Rodrigo
 Rodrigues. II. Universidade Estadual de
 Ponta Grossa. Mestrado em Agronomia. III.
 T.

CDD: 633.15



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

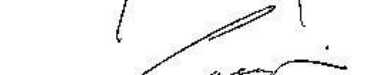
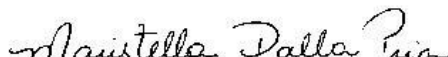
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: "Controle genético da resistência de milho à antracnose do colmo".

Nome: Débora da Silva Máximo

Orientador: Rodrigo Rodrigues Matiello

Aprovado pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello
Prof. Dr. Marcos Ventura Faria
Prof. Dr. Maristella Dalla Pria

Data da Realização: 20 de março de 2013.

Aos meus pais: **Livaldi de Lima Máximo** e
Anita da Silva Máximo e minha irmã
Patrícia Sviech. Pelo amor incondicional.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, meu Pai amado, no qual deposito toda minha fé e amor, por não me deixar desanimar.

A autora expressa seus sinceros agradecimentos à Universidade Estadual de Ponta Grossa, em especial ao curso de pós-graduação em Agronomia e a todas as pessoas sem as quais esse trabalho não teria sido realizado.

À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello, pela idealização do presente estudo, ajuda, paciência e pela excelente orientação durante a realização do trabalho.

Aos meus pais queridos, por toda compreensão, amor e apoio em todos os momentos, por me ensinarem a nunca desistir, buscar e conquistar meus sonhos, eu amo vocês.

A minha irmã, pela preocupação, amizade, amor e conselhos que levo comigo sempre. Você é o meu orgulho e exemplo de vida.

Ao William dos Anjos pela compreensão, imensa ajuda e por todos os momentos ao longo desse trabalho.

Aos queridos amigos do Laboratório de Genética Molecular: Hellen C. Prochno, Caroline Coelho, Danilo Guimarães, Daniele Tasior, Christiane Romanek, Guilherme de Jong, Rodrigo Hilbert, Francyyelly Ferreira, Thaís da Silva, Eduardo Oliveira, Murilo Torrecija Dayane Molin, Brenda Luiza, Aghata Charnobay, Lucas Brigola, Gessyca Souvinski e Felipe Biezu (*in memoriam*) pela fundamental ajuda na realização deste trabalho e pela amizade e companheirismo.

À empresa Dow Agrosiences pelo fornecimento do patógeno utilizado no presente trabalho.

Aos funcionários da UEPG, em especial Zima Richter.

A todos que de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho e formação da autora. Meus sinceros agradecimentos.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram determinar o controle genético da resistência de milho à antracnose do colmo e estimar a ação gênica envolvida nas gerações descendentes de cruzamentos entre linhagens endogâmicas de milho tropical. A estimativa dos parâmetros genéticos foi utilizada para determinar o modo de herança da resistência, em nove famílias derivadas dos cruzamentos entre linhagens resistentes e suscetíveis à *Colletotrichum graminicola*. Cada família foi constituída de seis gerações (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2), as quais foram avaliadas para resistência em dois experimentos implantados no delineamento de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas, onde nas parcelas foi estudado o efeito de famílias e nas subparcelas o efeito das gerações, com três repetições. As inoculações dos colmos foram realizadas no estágio de florescimento pleno com suspensão de $5,0 \times 10^5$ conídios mL^{-1} . A quantificação da doença foi realizada no estágio de florescimento pleno da cultura, através do comprimento externo e interno de lesão (cm), e pelo número de internódios descoloridos. As três formas de avaliação foram eficientes em discriminar indivíduos resistentes e suscetíveis ao patógeno. Na análise das médias das gerações, observou-se a existência de grande variabilidade genética entre as linhagens endogâmicas utilizadas. A linhagem L_R 04-2 destacou-se em todas as famílias/gerações em que participou, sempre condicionando os menores valores de lesão. Os resultados indicaram modo de herança semelhante entre as famílias, com predomínio de efeitos genéticos aditivos explicando em média 81,92%. Os coeficientes de herdabilidade (sentido amplo e restrito) foram de elevada magnitude, indicando a facilidade no processo de seleção artificial pelos programas de melhoramento. As estimativas de heterose foram altas e negativas em todas as famílias estudadas, revelando a capacidade das linhagens resistentes em transmitir o caráter resistência para as gerações filiais, diminuindo o comprimento das lesões. Os resultados demonstraram que o controle genético da resistência de milho à antracnose do colmo é governado por poucos genes de grande efeito na expressão fenotípica. A herança de natureza aditiva, associada às altas estimativas de herdabilidade e controle genético oligogênico, permitem inferir que os ganhos genéticos com a seleção lograrão êxito em programas de melhoramento, que buscam desenvolver populações de milho resistentes à antracnose do colmo.

Palavras-chave: variabilidade genética, linhagens resistentes, *Colletotrichum graminicola* e ação gênica.

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the genetic control of resistance to anthracnose stalk rot of corn and estimate the gene action involved in the generations descended from crosses between inbred lines of tropical maize. The estimation of genetic parameters was used to determine the mode of inheritance of resistance in nine families derived from crosses between resistant and susceptible inbred lines to *Colletotrichum graminicola*. Each family consisted of six generations (P_1 , P_2 , F_1 , RC_1 and RC_2), which were evaluated for resistance in two experiments implanted in a randomized block design in a split plot design, with three replications. Inoculations were performed using a suspension of 5×10^6 conidia mL⁻¹ applied into the stalk. The quantification of the disease was performed using the external and internal length of lesion (cm), and number of internodes discolored. The three forms of assessment were effective in discriminating individuals resistant and susceptible to the pathogen. Through the analysis of mean generations, it was observed that there is great genetic variability among inbred lines used, where the L_R 04-2 was the most effective in all families/ generations in which participated, always conditioning the lower values of lesion. The results indicated a similar mode of inheritance among families, with a predominance of additive genetic effects explaining 81.92% on average. The heritability coefficients (broad and narrow sense) were of high magnitude, indicating facility in the process of artificial selection by breeding programs. Estimates of heterosis were high and negative in all families studied, revealing the ability of resistant inbred lines to transfer the character resistance for the next generations, reducing the length of the lesions. The results showed that the genetic control of corn to anthracnose stalk rot is governed by a few genes of large effect on phenotypic expression. The additive nature of inheritance, associated with higher estimates of heritability and oligogenic genetic control, infer that the genetic gains with selection will be successful in breeding programs that develop maize populations resistant to anthracnose stalk rot.

Keywords: genetic variability, resistant inbred lines, *Colletotrichum graminicola*, genic action.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. (A) Visão geral de uma placa de Petri contendo colônias esporuladas de <i>C. graminicola</i> (B) Raspagem superficial da colônia para liberação dos conídios (C) Suspensão concentrada de conídios (D) Suspensão concentrada de conídios com ampliação de 4x (E) Ampliação de 40x e (F) Ampliação de 100x. Ponta Grossa, PR.....	29
Figura 2. (A) Internódio perfurado com o auxílio de um furador, (B) Inoculação dos conídios de <i>C. graminicola</i> com seringa, (C) Toalete dos colmos e (D) Colmos amarrados e identificados. Ponta Grossa, PR.....	31
Figura 3. Lesão interna da antracnose do colmo (<i>C. graminicola</i>) nas linhagens suscetíveis (A) L _S 71-1, (B) L _S 95-1, (C) L _S 99-4 e resistentes (D) L _R 04-2, (E) L _R 03-2 e (F) L _R 23-1. Ponta Grossa, PR.....	37
Figura 4. Lesão interna da antracnose do colmo (<i>C. graminicola</i>) na geração F ₂ dos cruzamentos: (A) L _R 04-2 x L _S 71-1, (B) L _R 04-2 x L _S 95-1, (C) L _R 04-2 x L _S 99-4, (D) L _R 03-2 x L _S 71-1, (E) L _R 03-2 x L _S 95-1, (F) L _R 03-2 x L _S 99-4; (G) L _R 23-1 x L _S 71-1, (H) L _R 23-1 x L _S 95-1 e (I) L _R 23-1 x L _S 99-4. Ponta Grossa, PR.....	41
Figura 5. Número de indivíduos da geração F ₂ nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L _R 04-2 x L _S 71-1, (B) L _R 04-2 x L _S 95-1 e (C) L _R 04-2 x L _S 99-4, no primeiro experimento. L _R = linhagem resistente, L _S = linhagem suscetível, F ₁ = geração filial L _R x L _S e N = número total de indivíduos da geração F ₂ . Ponta Grossa, PR.....	45
Figura 6. Número de indivíduos da geração F ₂ nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L _R 04-2 x L _S 71-1, (B) L _R 04-2 x L _S 95-1 e (C) L _R 04-2 x L _S 99-4, no segundo experimento. L _R = linhagem resistente, L _S = linhagem suscetível, F ₁ = geração filial L _R x L _S e N = número total de indivíduos da geração F ₂ . Ponta Grossa, PR.....	46
Figura 7. Número de indivíduos da geração F ₂ nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L _R 03-2 x L _S 71-1, (B) L _R 03-2 x L _S 95-1 e (C) L _R 03-2 x L _S 99-4, no primeiro experimento. L _R = linhagem resistente, L _S = linhagem suscetível, F ₁ = geração filial L _R x L _S e N = número total de indivíduos da geração F ₂ . Ponta Grossa, PR.....	47

- Figura 8.** Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 03-2 x L_S 71-1, (B) L_R 03-2 x L_S 95-1 e (C) L_R 03-2 x L_S 99-4, no segundo experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR..... 48
- Figura 9.** Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 23-1 x L_S 71-1, (B) L_R 23-1 x L_S 95-1 e (C) L_R 23-1 x L_S 99-4, no primeiro experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR..... 49
- Figura 10.** Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 23-1 x L_S 71-1, (B) L_R 23-1 x L_S 95-1 e (C) L_R 23-1 x L_S 99-4, no segundo experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR..... 50

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Resumo da análise de variância do 1º experimento para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) em função das famílias, gerações e da interação família x geração. Ponta Grossa, PR.....	35
Tabela 2. Resumo da análise de variância do 2º experimento para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) em função das famílias, gerações e da interação família x geração. Ponta Grossa, PR.....	36
Tabela 3. Efeito do desdobramento das gerações (L_R , L_S , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2) nas respectivas famílias para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) em cm e número de internódios descoloridos (INT) do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.....	38
Tabela 4. Efeito do desdobramento das gerações (L_R , L_S , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2) nas respectivas famílias para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) em cm e número de internódios descoloridos (INT) do segundo experimento. Ponta Grossa, PR.....	39
Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT), para o primeiro e segundo experimento. Ponta Grossa, PR.....	53
Tabela 6. Percentagem da variação do comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) explicada pelos efeitos aditivos ($\hat{a}$), dominante ($\hat{d}$) e interações epistáticas ($\hat{aa}$, $\hat{ad}$ e $\hat{dd}$) para cada família do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.....	56
Tabela 7. Percentagem da variação do comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) explicada pelos efeitos aditivos ($\hat{a}$), dominante ($\hat{d}$) e interações epistáticas ($\hat{aa}$, $\hat{ad}$ e $\hat{dd}$) para cada família do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.....	57
Tabela 8. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}^2_a$), sentido restrito ($\hat{h}^2_r$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) e número de genes de resistência à antracnose do colmo para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) para cada família do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.....	60

Tabela 9. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}^2_a$), sentido restrito ($\hat{h}^2_r$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) e número de genes de resistência à antracnose do colmo para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) para cada família do segundo experimento. Ponta Grossa, PR.....

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. A CULTURA DO MILHO.....	15
2.2. PODRIDÕES DE COLMO EM MILHO.....	16
2.3. ANTRACNOSE DO COLMO.....	17
2.4. ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA DE <i>C. graminicola</i>	18
2.5. CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1. MATERIAL VEGETAL.....	27
3.2. EXPERIMENTOS DE CAMPO.....	28
3.3. MULTIPLICAÇÃO E PREPARO DO INÓCULO.....	28
3.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS E ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1. ANÁLISE DE MÉDIAS DAS GERAÇÕES.....	34
4.2. ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS.....	54
5. CONCLUSÕES.....	66
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

1. INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma das mais importantes no segmento agropecuário do Brasil, e constitui um dos principais insumos no complexo industrial envolvido na alimentação animal, humana ou na geração de receita mediante a comercialização da produção (CRUZ et al., 2011). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial deste cereal, logo após os Estados Unidos da América e da China (COSTA et al., 2010). Os resultados alcançados com a cultura na safra 2011/2012 destacam-se no setor agropecuário brasileiro. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento, a produção de milho na safra 2011/12 chegou a 69,48 milhões de toneladas, ou seja, 21% superior à safra passada (CONAB, 2012).

Nos últimos anos a ocorrência de plantios sucessivos da cultura e o incremento das áreas no sistema de plantio direto na palha sem rotação de culturas contribuiu para o aumento na incidência de podridões do colmo, até então de importância secundária para a cultura (COSTA et al., 2008; MATIELLO et al., 2012). Dentre elas, a antracnose do colmo causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils, pode ocasionar danos à cultura e merece destaque pelos reflexos econômicos negativos. O patógeno tem a capacidade de infectar todas as partes da planta, entretanto, é comumente constatada a campo nas formas de antracnose foliar e do colmo (FERREIRA; CASELA, 2001).

A antracnose do colmo promove danos diretos à planta pela colonização dos tecidos vasculares, levando ao acamamento e por consequência, a redução do enchimento de grãos e em algumas situações a morte prematura de plântulas (DENTI; REIS, 2001). Como esta doença pode reduzir significativamente o potencial e a produtividade da cultura, o sucesso no controle do patógeno no milho deve ser realizado através de um conjunto de medidas, executadas de forma integrada (BLUM et al., 2003).

Uma vez que a adoção de variedades ou híbridos resistentes é a estratégia mais eficiente de controle, o conhecimento do modo de herança auxilia o melhorista na escolha do melhor método de seleção, maximizando os ganhos genéticos. Estudos relativos ao controle genético da resistência a doença indicam que é condicionada por poucos genes, com predomínio da interação alélica aditiva (CARSON; HOOKER, 1981; LIM; WHITE, 1978; MATIELLO et al., 2012; WELDEKIDAN; HAWK, 1993).

Visto que a herança de um caráter é de suma importância para a seleção de genótipos resistentes em um programa de melhoramento de milho, o presente trabalho teve por objetivos estudar a herança da resistência à *C. graminicola* através de três formas de avaliação (comprimento externo/interno de lesão e número de internódios descoloridos), bem como estimar o tipo e a magnitude da ação gênica envolvida nas gerações descendentes de cruzamentos entre linhagens endogâmicas de milho tropical.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A CULTURA DO MILHO

De acordo com a classificação botânica, o milho é uma gramínea anual, pertencente à família *Poaceae*, tribo *Maydeae*, gênero *Zea*, espécie *Zea mays* L. (MACHADO; PATERNIANI, 1999; PATERNIANI; CAMPOS, 1999). Representa um dos principais cereais cultivados no mundo, fornecendo produtos amplamente utilizados para a alimentação humana, animal e matéria prima para a indústria, principalmente em função da quantidade e da natureza das reservas acumuladas nos grãos (DOURADO NETO; FANCELLI, 2004).

O milho é provavelmente a espécie cultivada que exibe maior variabilidade genética, permitindo que seja cultivado em distintas condições ambientais (TEIXEIRA et al., 2002). Com o desenvolvimento de linhas puras e por consequência a exploração comercial do vigor híbrido, possibilitou aos melhoristas incorporar novas características como resistência a doenças e pragas, melhor empalhamento das espigas, maior resposta às práticas de manejo, melhor qualidade nutricional e menor quebramento de plantas (CIB, 2006).

O Brasil encontra-se entre os principais produtores mundiais de milho, ocupando a terceira posição, com produção de aproximadamente 70 milhões de toneladas, atrás apenas dos Estados Unidos da América e da China com 313,91 e 192,78 milhões de toneladas, respectivamente (USDA, 2012). No país, a produção das duas safras em 2012, totalizou 69,48 milhões de toneladas, equivalendo ao incremento de 21% em relação à safra anterior. Em 2012, a área total semeada foi de aproximadamente 15 milhões de hectares, representando um aumento de 9,5% em relação à safra de 2011 (IBGE, 2012). O cultivo nacional do cereal foi recorde em 2012 (safrinha) devido a um conjunto de fatores, como aumento da área semeada, maior uso de tecnologia e condições climáticas favoráveis na maioria dos estados produtores (CONAB, 2012).

2.2. PODRIDÕES DE COLMO EM MILHO

As podridões de colmo vêm sendo reconhecidas como fator limitante para a produção de milho (BUTZEN; DOLEZAL, 2010; CHRISTENSEN; WILCOXSON, 1966; COSTA et al., 2010; KOEHLER, 1960; MICHAELSON, 1957). Diversos patógenos estão associados com as podridões da base do colmo, contudo variam na incidência/severidade de acordo com o ambiente e o clima (KELLER; BERGSTROM, 1988). Embora esses patógenos estejam presentes simultaneamente no milho, um grupo está mais frequentemente associado à podridão do colmo em determinada região. A dominância entre as espécies, e a sua diversidade, podem ser alteradas tanto dentro da época de crescimento como gradualmente através do tempo com mudanças nas práticas culturais e com a introdução de novos híbridos a campo (COSTA et al., 2010; GATCH; MUNKVOLD, 2002).

Nos Estados Unidos da América, os agentes causais das podridões compreendem as espécies *Giberella zeae* (Schwien) Petch, *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils, *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton e espécies do gênero *Fusarium* [*Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg e *Fusarium subglutinans* (Wollenw.) Reinking] (BYRNES; CARROLL, 1986; GATCH; MUNKVOLD, 2002). No Brasil, os principais fungos causadores da podridão de colmo são *C. graminicola*, *S. maydis*, *S. macrospora* (Earle.) Sutton, *F. graminearum* (Earle.) Sutton e *Fusarium moniliforme* Shel. (BALMER; PEREIRA, 1987; DENTI; REIS, 2001; PEREIRA; PEREIRA, 1976; REIS; CASA, 1996).

Estudos têm demonstrado que *C. graminicola* tornou-se um dos principais agentes causais das podridões do colmo ao longo dos anos. Williams e Willis (1963) relataram que *C. graminicola* foi isolado em 50% dos colmos infectados no campo experimental de Ohio (USA), assim como Hooker e White (1976) relataram que 78% dos colmos examinados estavam infectados com o patógeno nos campos de Illinois (USA). No Brasil, levantamentos

realizados pela Embrapa Milho e Sorgo na safra 2006/2007 também demonstraram a predominância de *C. graminicola* (62,7%) entre os principais patógenos associados à podridão de colmo em milho (COSTA et al., 2008).

Muitos fatores contribuem para o aumento da antracnose do colmo na cultura do milho e para a sobrevivência do patógeno a campo. Dentre os principais, destacam-se a ampla adoção do plantio direto na palha sem a rotação de culturas (BARBOSA, 2010), o aumento das áreas irrigadas e cultivo safrinha (BARBOSA, 2010; BRASIL; CARVALHO, 1998), a aplicação excessiva de nitrogênio (TOMAZELA et al., 2006) e as alterações climáticas (PINTO; SANTOS; WRUCK, 2006).

2.3. ANTRACNOSE DO COLMO

Dentre as podridões do colmo que incidem sobre a cultura do milho, a antracnose é a principal, pois além de reduzir o rendimento, interfere na qualidade dos grãos produzidos (JIM, 1999; YANG et al., 2005; YANG; ZHANG; WANG, 2002).

Antes da década de 1970, epidemias localizadas da antracnose do colmo foram relatadas em vários países ao redor do mundo, porém, a doença não foi considerada grave nos Estados Unidos (DALE, 1963). Essa percepção mudou em meados de 1970, quando surtos epidêmicos da doença ocorreram em todo o Norte-Central e Leste no país, incluindo o estado de Indiana, onde a cultura do milho ficou totalmente inviabilizada durante dois anos após a sua constatação (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; HOOKER; WHITE, 1976; WARREN et al., 1973). Estudos indicam a frequente presença do patógeno nos campos de milho dos Estados Unidos, porém, a intensidade da doença depende do híbrido utilizado, do ambiente e do tempo de infecção (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; VENARD; VAILLANCOURT, 2006). No Brasil, a antracnose do colmo tornou-se uma doença limitante à produtividade nas lavouras de milho, principalmente devido ao cultivo da safrinha e ao advento do plantio

direto, que mantém o hospedeiro e/ou a palhada disponível para a manutenção e reprodução do patógeno (MORELLO, 2000). O primeiro relato da antracnose do colmo no país foi feito por Silveira; Figueiredo e Cruz (1965) que constataram a presença da doença em uma área de produção de sementes híbridas, no município de Campinas, estado de São Paulo, estimando redução na produção de grãos em torno de 30%.

Estimativas de danos na produção de grãos em função da antracnose do colmo vêm sendo realizados ao longo dos anos (CALLAWAY; SMITH; COFFMAN, 1992). Nos Estados Unidos da América, foram relatados danos na produção variando de 10 a 20% em híbridos suscetíveis e em outros países, como Índia, França e Filipinas de até 50% (CALLAWAY; SMITH; COFFMAN, 1992; CARSON; HOOKER, 1981; PERKINS; HOOKER, 1979; SHURTLEEF, 1992; SMITH, 1976; WHITE; YANNEY; NATTI, 1979). Especificamente para o Brasil, os danos causados pelas podridões da base do colmo ainda não foram quantificados com precisão (DENTI; REIS, 2003). No estado do Paraná, Nazareno (1989) relatou danos na produção variando de 12 a 40%, dependendo do ano, local e híbrido utilizado. Matiello et al. (2013) através da inoculação de *C. graminicola* em dois híbridos (suscetível e resistente), estimaram redução no rendimento de grãos apenas no híbrido suscetível H8420, variando de 16,1 a 20,2%. Adicionalmente, Cota et al. (2009) verificaram redução de 34,4% no peso das espigas em plantas inoculadas com *C. graminicola*.

2.4. ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA DE *C. graminicola*

C. graminicola (Ces.) Wils, forma perfeita *Glomerella graminicola* Politis, é o agente causal da antracnose foliar e do colmo em milho (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987a, BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; COELHO et al., 2001). O patógeno é um dos principais componentes do complexo das podridões do colmo, podendo

infectar qualquer parte da planta, incluindo grãos, folhas, colmo, pendão e até raízes (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; SUKNO et al., 2008).

Os conídios são unicelulares, medem aproximadamente 30 μ de comprimento por 5 μ de largura, são hialinos e falciformes, produzidos abundantemente em estruturas reprodutivas denominadas de acérvulos (FERREIRA; CASELA, 2001; VAILLACOURT; HANAU, 1992). Os conídios podem permanecer viáveis de semanas a meses, dependendo da umidade relativa do ar, desde que estejam recobertos por uma matriz mucilaginosa composta de polissacarídeos e proteínas (BERGSTROM; NICHOLSON, 1983; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; NICHOLSON; MORAES, 1980). Normalmente, a dispersão dos conídios é de curta distância e ocorre por respingos de chuva e pelo vento. Bergstrom e Nicholson (1983) relataram que a matriz mucilaginosa não está envolvida apenas na sobrevivência dos conídios, mas também na indução da patogenicidade. Em sementes infectadas, o patógeno pode sobreviver por até três anos (LIPPS, 1988; WARREN, 1977).

Os conídios produzidos em resíduos culturais deixados na superfície do solo constituem a fonte de inóculo primário para a próxima cultura (JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011; LE BEAU; STOKES; COLEMAN, 1951; LIPPS, 1985; NAYLOR; LEONARD, 1977). Por outro lado, a esporulação nas lesões de folhas maduras (antracnose foliar) serve como inóculo secundário, o qual será responsável tanto por novas lesões foliares como pela infecção do colmo (LIPPS, 1988; WHITE; YANNEY; NATTI, 1979). Dessa forma, verifica-se que o cultivo de milho sob monocultura favorece o aumento da ocorrência da antracnose do colmo, à medida que a incidência da doença apresenta uma relação direta com a quantidade de restos culturais infectados presentes na superfície do solo (BYRNES; CARROL, 1986; DEL RIO; ZÚNGIA, 1991) e, conseqüentemente, com o maior período de sobrevivência do patógeno associado aos restos culturais (JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011; SNYMAN; WEHNER, 1988).

Três tipos de sintomas podem ser observados em plantas infectadas por *C. graminicola*: queima das folhas, seca do ponteiro e a podridão do colmo (CARSON, 1999; WHITE; HUMY, 1976). Os sintomas da antracnose foliar podem aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura e caracterizam-se pela presença de lesões escuras de tamanho variável (0,5 a 1,5 cm), de forma ovalada a elíptica, podendo apresentar bordas irregulares que podem coalescer e ocasionar dano extenso às folhas. Nessas lesões formam-se numerosos acérvulos, os quais permitem a identificação da doença sob condições de campo e em laboratório (FERREIRA; CASELA, 2001; SILVA, 2006).

No colmo os sintomas são mais visíveis após o estágio de florescimento pleno da cultura. Na casca caracterizam-se por lesões encharcadas, estreitas e elípticas, as quais tornam-se posteriormente marrom-escuras a negras que podem coalescer e formar manchas ou estrias deprimidas. O tecido interno do colmo apresenta coloração marrom-escura podendo desintegrar-se totalmente (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006; COSTA et al., 2010). Com certa frequência pode ocorrer a seca do ponteiro, sintoma conhecido como “top dieback” onde, inicialmente, observa-se o murchamento das folhas apicais, que posteriormente secam (COSTA et al., 2008; COTA et al., 2009).

A temperatura ideal para o desenvolvimento de *C. graminicola* é de 30°C (LEONARD; THOMPSON, 1976), podendo haver variação em relação ao genótipo adotado. Skoropad (1967) relatou que a germinação e a formação dos apressórios podem ocorrer numa faixa maior de temperatura (15 a 35°C), mas a penetração nos tecidos do hospedeiro somente ocorrerá numa amplitude de 25 a 30°C. Adicionalmente, a antracnose pode ser favorecida por períodos prolongados de alta umidade, condição necessária para a esporulação e dispersão dos conídios (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

A antracnose do colmo é mais severa em lavouras que apresentam injúrias ocasionadas por insetos, principalmente a larva europeia da broca do milho (*Ostrinia nubilalis* Hub.),

comum em campos de produção da América do Norte (MUIMBA-KANKOLONGO; BERGSTROM, 2011). Esta larva facilita o desenvolvimento da podridão de colmo criando pontos de entrada para o fungo, causando estresse fisiológico que pode predispor a planta ao tombamento (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; CHIANG; WILCOXSON, 1961; CHRISTENSEN; SCHNEIDER, 1950; GATCH; HELLMICH; MUNKVOLD, 2002; JARVIS et al., 1984; SOBEK; MUNKVOLD, 1999). No Brasil, a broca da cana-de-açúcar, (*Diatraea saccharalis* Fab.), pode desempenhar o mesmo papel (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). Porém, é importante ressaltar que o patógeno pode infectar o colmo sem a presença de injúrias, deteriorando as fibras lignificadas da casca e penetrando através de aberturas das paredes celulares, embora esse mecanismo de infecção é muito mais lento e pouco eficiente (VENARD; VAILLANCOURT, 2007).

Além do milho, isolados de *C. graminicola* podem infectar outras culturas agrícolas como a aveia (*Avena sativa* L.), a cevada (*Hordeum vulgare* L.) e o trigo (*Triticum aestivum* L.). A capacidade de isolados obtidos de milho infectarem sorgo ainda é discutida (REZENDE, 2004; SCHURTLEEF, 1980). Conídios de *C. graminicola* provenientes de gramíneas próximas a cultura, podem infectar folhas maduras, mas apenas o inóculo oriundo de isolados de milho pode ocasionar epidemias (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

2.5. CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA

O emprego da resistência genética no controle de doenças vegetais representa um dos maiores avanços tecnológicos da agricultura. A utilização de genes de resistência pelos programas de melhoramento tem sido o método mais indicado por ser mais barato, eficiente, simples e ecologicamente correto.

A literatura indica que as condições ambientais podem influenciar a resistência genética do hospedeiro. A alta intensidade de luz aumenta a resistência da planta à antracnose

e diminui o tamanho das lesões ocasionadas pelo patógeno associada ao acúmulo de antocianina ao redor das mesmas (HAMMERSCHMIDT; NICHOLSON, 1977; JENNS; LEONARD, 1985; SCHALL; NICHOLSON; WARREN, 1995). Por outro lado, a redução da intensidade de luz resulta em maior suscetibilidade, considerando que este fato pode ocorrer independente do nível de resistência ou suscetibilidade do hospedeiro (SCHALL; NICHOLSON; WARREN, 1995). Este fenômeno sugere a possibilidade de compostos fenólicos estarem envolvidos na expressão da resistência do milho à antracnose do colmo, os quais são altamente dependentes de luz (DIXON; PAIVA, 1995; HOLTON; CORNISH, 1995; NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). A resistência do hospedeiro pode ser também influenciada pelo estágio fenológico da cultura, sendo que os tecidos do colmo se tornam mais suscetíveis na antese, devido à alta concentração de açúcares acumulados (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

Outros fatores como a desfolha durante o florescimento, a população de plantas e a precocidade dos híbridos, alteram a distribuição dos fotoassimilados entre as diferentes estruturas da planta, podendo influenciar na incidência das podridões do colmo em milho (BLUM et al., 1999; BLUM et al., 2001; SANGOI et al., 2000). Segundo Blum et al. (2003), o incremento da população de plantas na lavoura ocasiona o aumento da intensidade (incidência e/ou severidade) das podridões do colmo, como a ocasionada por *C. graminicola*.

Vários estudos indicam que o controle genético da resistência de milho a *C. graminicola* é principalmente condicionado por poucos genes com efeitos aditivos, embora alguns genes de resistência com ação predominantemente de dominância também tenham sido identificados (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987a; CARSON; HOOKER, 1981; JUNG et al., 1994; TOMAN; WHITE, 1993; WELDEKIDAN; HAWK, 1993). Através da análise dialélica, Lim e White (1978) relataram que a resistência à antracnose do colmo é condicionada por genes com ação prioritariamente aditiva embora efeitos heteróticos

significativos também tenham sido encontrados, indicando dominância parcial para alguns deles.

Carson e Hooker (1981) estudando cinco conjuntos de cruzamentos envolvendo linhagens contrastantes para resistência a *C. graminicola*, através da análise de médias de gerações, concluíram que os efeitos genéticos aditivos foram responsáveis por mais de 90% do total da variação entre as médias das gerações, com efeitos de dominância significativos em algumas populações. Pereira; Balmer e Miranda Filho (1989), avaliando a percentagem de área lesionada do colmo em famílias oriundas de cruzamentos contrastantes para resistência encontraram efeitos aditivos preponderantes na maioria das famílias. Da mesma forma, Matiello et al. (2012) estudando a resistência em milho tropical à partir de duas populações (DAS21 x DAS86 e DAS64 x DAS86), relataram modo de herança distinto entre elas, onde na população DAS21 x DAS86 houve predomínio da ação dominante enquanto que na DAS64 x DAS86 maior contribuição da ação aditiva.

Callaway; Smith e Coffman (1990) encontraram heterose e capacidade de combinação (específica e geral) significativas, indicando que tanto efeitos aditivos, como não aditivos foram importantes no controle genético da resistência, embora os efeitos aditivos tenham sido de maior magnitude. Por outro lado, Badu-Apraku; Gracen e Bergstrom (1987b) comprovaram, pela primeira vez, resistência do tipo monogênica com ação dominante em relação à podridão do colmo, analisando internódios descoloridos com o auxílio de escala diagramática. Posteriormente, este padrão de herança monogênica foi relatada por Coelho et al. (2001) para a antracnose foliar em linhagens e híbridos de milho.

As lesões foliares da antracnose podem servir como fonte de inóculo para infecções do colmo, causando o tombamento da planta e consequente redução na produtividade (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). No entanto, a herança da resistência para a fase foliar e para a podridão do colmo manifesta-se independentemente, sugerindo que diferentes

mecanismos de resistência estejam envolvidos para as duas fases (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM 1987a; WHITE; YANNEY; NATTI, 1979; ZUBER et al., 1981). A resistência para cada fase pode ser controlada por um ou poucos genes com grande efeito, ou por vários genes com pequenos efeitos aditivos. Porém, a especificidade da expressão da resistência ainda é pouco conhecida (CARSON; HOOKER, 1981; COELHO et al., 2001; LIM; WHITE, 1978; TOMAN; WHITE, 1993; WELDEKIDAN; HAWK, 1993; WHITE; YANNEY; NATTI, 1979). Hooker (1976) verificou que os fatores que conferem resistência a antracnose foliar em plântulas, plantas adultas e de colmo são diferentes. Nas folhas, o sistema que condiciona resistência à doença na nervura central foi diferente daquele que ocorre no limbo foliar. Para o autor a expressão da resistência indicou herança quantitativa com efeitos genéticos aditivos e dominantes, com predomínio da dominância para a suscetibilidade. Embora o efeito de dominância não tenha sido evidente para a expressão da resistência à antracnose do colmo.

Pereira, Balmer e Miranda Filho (1989) hipotetizaram que a herança da resistência a *C. graminicola* não parece ser complexa. Apesar dos efeitos genéticos aditivos serem de maior magnitude, a presença da dominância em alguns locos e a imprevisível direção que ela toma em alguns cruzamentos específicos, indica que os critérios de seleção artificial sejam adaptados para cada população sob seleção. Predomínio de efeitos genéticos aditivos, associados à alta herdabilidade, e a evidência de um pequeno número de genes controlando a resistência, sugerem que métodos simples de seleção, tais como a seleção massal e a seleção recorrente fenotípica seriam muito eficientes em programas de melhoramento de milho visando resistência a este patógeno (CARSON; HOOKER, 1981; WHITE; YANNEY; NATTI, 1979).

A literatura apresenta grande divergência de informações, quanto ao número de genes controlando a resistência à podridão do colmo em milho. Carson e Hooker (1981) através da

técnica de translocação recíproca localizaram genes nos cromossomos 1, 4, 6 e 8. No entanto, Jung et al. (1994) utilizando o marcador molecular RFLP observaram somente uma região genômica localizada no cromossomo 4, com forte associação a um QTL (*Quantitative Trait Loci*), o qual explicou mais de 50% da variação fenotípica para resistência. Matiello (2004), localizou sete regiões genômicas associadas a alelos de resistência nos cromossomos 1, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, os quais explicaram de 2,1 a 14,7% da variação fenotípica para resistência à antracnose do colmo presente na população de mapeamento.

Frey et al. (2011) testaram quatro combinações híbridas de milho quase isogênicas (presença ou ausência) para o gene de resistência *Rcg1*. Os resultados demonstraram que os híbridos que continham o *Rcg1*, quando inoculados com *C. graminicola*, produziram 1.106 kg ha⁻¹ a mais do que os híbridos sem o gene de resistência. Além disso, a presença do *Rcg1* não teve impacto adaptativo sobre a produção e outras características agrônômicas dos híbridos na ausência do patógeno. O *Rcg1* parece atrasar o desenvolvimento da doença na planta, levantando a hipótese de que menos inóculo seria produzido para a próxima safra, e com isso diminuiriam as chances do patógeno se adaptar a presença do gene, possivelmente conferindo resistência mais durável a campo.

A antracnose do colmo é uma doença de importância mundial para a cultura do milho, por possibilitar danos significativos na produção da cultura em decorrência do acamamento, da morte prematura de plântulas e pela consequente redução do peso de grãos das espigas. Em virtude disso, sabendo que a resistência genética é a principal forma de controle da doença, é de extrema importância o conhecimento do modo de herança da resistência de milho à antracnose do colmo, sendo um quesito básico para combinar eficientemente os genitores visando obter populações segregantes ou híbridos superiores para resistência. Sendo assim, a identificação dos genes que conferem resistência de milho ao patógeno, bem como a estimativa do tipo e da magnitude da ação gênica envolvida na

resistência permitirá a incorporação destes locos de resistência em híbridos com características agronômicas desejáveis.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos na safra agrícola 2011/2012, na área experimental da Fazenda Escola “Capão da Onça”, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, localizada no Segundo Planalto Paranaense com latitude sul de 25°5’49’’ a 26°18’S e longitude de 48°34’ a 52°32’W e altitude de 950 m. Segundo a classificação climática de Köppen e Geiger, o clima de Ponta Grossa é classificado como Cfb, ou seja, clima temperado, com temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C, e no mês mais quente acima de 22°C (IAPAR, 2012).

3.1. MATERIAL VEGETAL

Para o estudo da herança da resistência de milho à *C. graminicola*, foram utilizadas nove famílias a partir de cruzamentos entre linhagens endogâmicas de origem tropical altamente contrastantes para resistência à antracnose do colmo: L_R 04-2 x L_S 71-1; L_R 04-2 x L_S 95-1; L_R 04-2 x L_S 99-4; L_R 03-2 x L_S 71-1; L_R 03-2 x L_S 95-1; L_R 03-2 x L_S 99-4; L_R 23-1 x L_S 71-1; L_R 23-1 x L_R 95-1; L_R 23-1 x L_S 99-4. Das linhagens endogâmicas que compõem cada família, a L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1 foram selecionadas previamente como altamente resistentes e as linhagens L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4, como genótipos altamente suscetíveis à antracnose do colmo (TORRECIJA, 2012).

Dentro de cada família foram estudadas as seguintes gerações: P₁ linhagem endogâmica resistente, P₂ linhagem endogâmica suscetível, F₁ a geração filial oriunda do cruzamento entre P₁ e P₂, F₂ a geração segregante obtida pela autofecundação da geração F₁, RC₁ o retrocruzamento da geração F₁ com a linhagem resistente (P₁) e RC₂ o retrocruzamento da geração F₁ com a linhagem suscetível (P₂).

3.2. EXPERIMENTOS DE CAMPO

Os experimentos de médias de gerações foram implantados em duas épocas de semeadura (18/10/2011 e 18/12/2011). As áreas experimentais foram inicialmente dessecadas com glifosato (Trop SL), juntamente com os inseticidas pyrimicarb (Pirimex WG) e lufenuron (Match CE), nas doses de 3; 0,8 e 0,2 L p.c. ha⁻¹, respectivamente. Com o auxílio da máquina semeadora/adubadora da Semeato, modelo PS-8, as áreas foram riscadas/adubadas no espaçamento entrelinhas de 0,8 m e adubação de base ajustada para 300 kg ha⁻¹ de NPK da fórmula 10-20-20 para o primeiro experimento e 14-34-00 para o segundo experimento, seguido da semeadura manual das respectivas famílias/gerações. A adubação em cobertura foi realizada entre os estádios de crescimento V4 e V6 com 200 kg ha⁻¹ de NK das fórmulas 36-00-12 e 25-00-25, respectivamente.

Os experimentos foram implantados no delineamento de blocos casualizados com três repetições. Os tratamentos foram arranjados em esquema de parcela subdividida, em que na parcela estudou-se o efeito das famílias e nas subparcelas o efeito das gerações. As gerações consideradas geneticamente uniformes (P₁, P₂ e F₁) de cada família, foram representadas por uma linha/repetição, as populações segregantes da geração F₂ com 4 linhas/repetição e as gerações de retrocruzamento (RC₁ e RC₂) com 2 linhas/repetição. Cada linha de semeadura apresentava 5 metros de comprimento por 0,8 m na entrelinha, com aproximadamente 25 plantas por linha.

3.3. MULTIPLICAÇÃO E PREPARO DO INÓCULO

O isolado de *C. graminicola* foi cedido pela empresa Dow AgroSciences Ltda (Jardinópolis – SP). Inicialmente, discos de meio de cultura contendo o isolado do patógeno, foram repicados para placas de Petri com o meio de cultura aveia-ágar (40 g de farinha de aveia, 17 g de ágar e 1.000 mL de água destilada). As placas com as colônias foram

multiplicadas e mantidas sob bancada em condição ambiente até a esporulação completa das colônias (Figura 1 A).

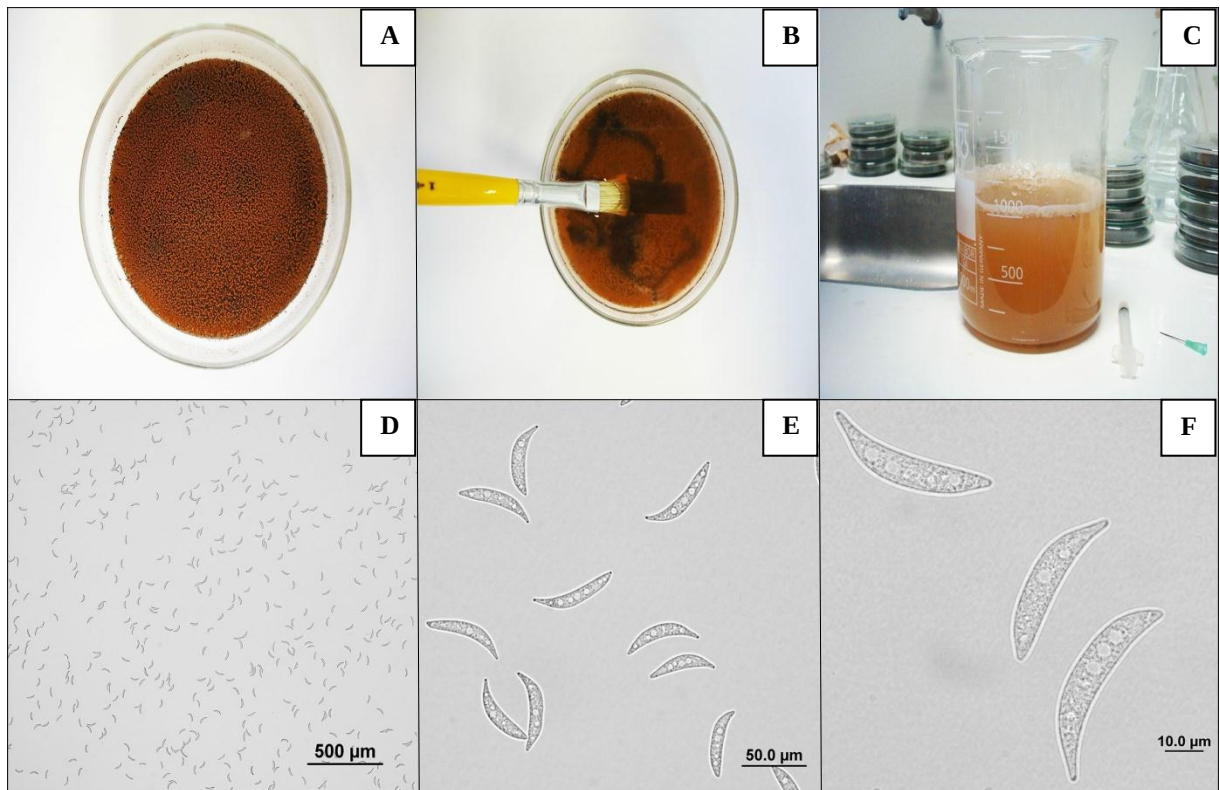


Figura 1. (A) Visão geral de uma placa de Petri contendo colônias esporuladas de *C. graminicola*, (B) Raspagem superficial da colônia para liberação dos conídios, (C) Suspensão concentrada de conídios, (D) Suspensão concentrada de conídios com ampliação de 4x, (E) Ampliação de 40x e (F) Ampliação de 100x. Ponta Grossa, PR.

O inóculo foi preparado através da adição de 20 mL de água deionizada estéril às placas contendo as colônias esporuladas do fungo, seguida da raspagem superficial da cultura com o auxílio de um pincel para liberação dos conídios (Figura 1 B). A suspensão concentrada de conídios (Figura 1 C) foi filtrada através de uma dupla camada de gaze, a fim de separar os conídios de restos do meio de cultura, e ajustada para a concentração de 5×10^5 conídios mL^{-1} através da contagem de esporos na câmara de Neubauer. A Figura 1 D, E e F, demonstra uma visão geral da suspensão concentrada dos conídios de *C. graminicola* com diferentes ampliações (4, 40 e 100x) em fotomicroscópio Olympus BX41, por captura de imagem digital em tempo real com câmera DP-71 de 12 mega pixels.

No estágio de florescimento pleno da cultura (R1) todas as plantas (famílias/gerações) dos dois experimentos foram inoculadas através da injeção de 1 mL da suspensão de conídios (5×10^5 conídios mL⁻¹), no meio do primeiro internódio visível acima da superfície do solo, com o auxílio de seringa de uso veterinário (Figura 2 A e B).

Para a avaliação da resistência ou suscetibilidade das famílias/gerações à *C. graminicola*, aproximadamente 60 dias após a inoculação dos colmos, todas as plantas foram submetidas à toalete a campo, ou seja, a retirada de folhas, espigas e pendão (Figura 2 C). Os colmos foram cortados próximos à superfície do solo, identificados e amarrados (Figura 2 D) e levados para galpão onde foram abertos longitudinalmente com o auxílio de uma serra fita elétrica. Após a secção dos colmos, o lado que melhor representou o sintoma interno da doença foi mantido para as avaliações fenotípicas.

Os colmos foram avaliados para o comprimento externo de lesão (CEXT), o comprimento interno de lesão (CINT) em cm, e o número de internódios descoloridos (INT) de acordo com a escala adaptada de Keller e Bergstrom (1988). Para a variável INT foram avaliados os seis primeiros internódios do colmo a partir do ponto de inoculação, sendo 1 na escala o indivíduo mais resistente e 6 o mais suscetível ao patógeno.

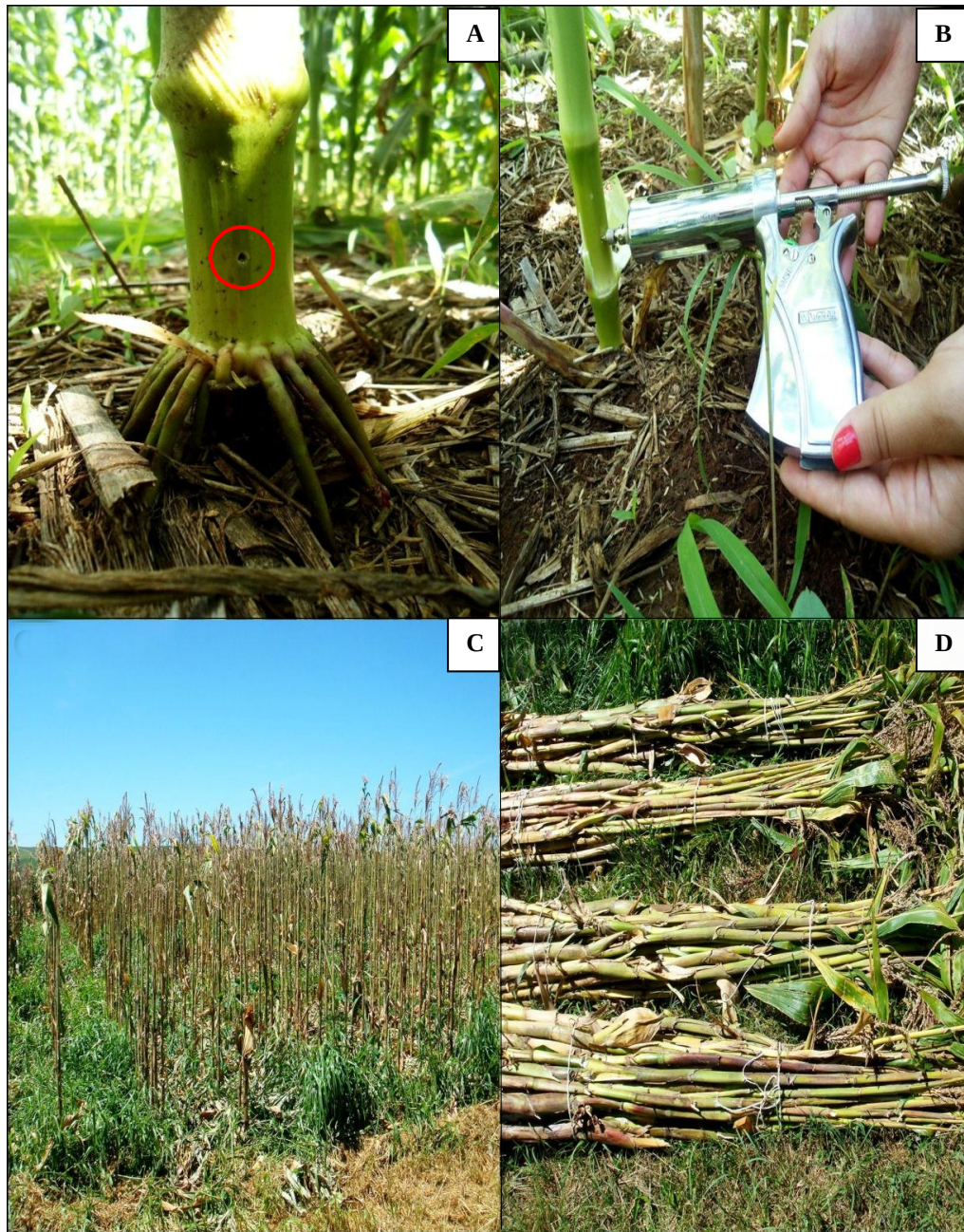


Figura 2. (A) Internódio perfurado com o auxílio de um furador, (B) Inoculação dos conídios de *C. graminicola* com seringa, (C) Toalete dos colmos e (D) Colmos amarrados e identificados. Ponta Grossa, PR.

3.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS E ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS

Os dados coletados das variáveis (CEXT, CINT e INT), dos dois experimentos foram submetidos à análise de variância individual. Na presença de efeito significativo da interação famílias x gerações, procedeu-se o desdobramento das gerações dentro de cada família. As médias das variáveis analisadas foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises de variância e os testes de médias foram realizados utilizando o

programa SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 1999). A análise de correlação de Pearson entre as variáveis CEXT, CINT e INT foram realizadas no programa SAS versão 8.1 (SAS INSTITUTE, 2000).

Para a variável CINT foi realizada a análise de distribuição de frequência para todas as famílias da geração F_2 . A determinação do número de classes fenotípicas (**K**) foi estimada pela fórmula $k = \sqrt{n}$, onde **n** refere-se ao número total médio de indivíduos de todas as famílias da geração F_2 ($n=196$). A amplitude fenotípica do CINT de cada classe (**AFC**) foi determinada por $AFC = \frac{A}{K}$, onde **A** representa a amplitude da variável CINT observada entre os indivíduos das respectivas famílias da geração F_2 .

Os efeitos genéticos foram estimados pela análise de médias de gerações segundo o modelo $Y_k = m + w_1a + w_2d + \theta_k$, no qual **Y** é a média da geração **k**, **m** é a média geral, **a** representa os efeitos aditivos, **d** os efeitos genéticos dominantes, **w₁** e **w₂** as contribuições relativas destes efeitos para cada média da geração e **θ_k** os desvios do modelo para cada família (MATHER; JINKS, 1971). As estimativas dos parâmetros genéticos foram realizadas pelo modelo completo que contém a $\hat{\mu}$ (média), $\hat{a}$ (efeito genético aditivo) e $\hat{d}$ (efeito genético dominante) obtidos pela equação $\beta = (X'X)^{-1}(X'Y)$ por meio da resolução do sistema ($y = X\beta + \varepsilon$), onde **Y** é o vetor das médias observadas das gerações para cada família, **X** a matriz dos coeficientes e **β** o vetor dos parâmetros. Adicionalmente, foram estimadas as interações epistáticas do tipo **aa** (aditivo x aditivo), **ad** (aditivo x dominante) e **dd** (dominante x dominante) pelo programa GENES versão 7.0 (CRUZ, 2009).

A partir das variâncias fenotípicas das variáveis CEXT, CINT e INT, das respectivas gerações, foram obtidas as seguintes estimativas relativas a cada população segregante da geração F_2 : a variância fenotípica $\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2$ sendo $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ a variância fenotípica total da geração F_2 , a variância genotípica $\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 - \hat{\sigma}_{m(F_2)}^2$, onde $\hat{\sigma}_{m(F_2)}^2$ é a variância

ambiental, a variância genética aditiva $\hat{\sigma}_a^2 = \frac{1}{2}a^2 = 2\hat{\sigma}_{g(F2)}^2 - [\hat{\sigma}_{g(RC1)}^2 + \hat{\sigma}_{g(RC2)}^2]$, em que $\hat{a}$ representa a variância devido aos efeitos aditivos e $\hat{d}$ a variância devido aos desvios de dominância $\hat{\sigma}_d^2 = \frac{1}{4}d^2 = \hat{\sigma}_{g(F2)}^2 - \hat{\sigma}_a^2$. A herdabilidade no sentido amplo foi estimada por

$\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{g(F2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F2)}^2} = \frac{\hat{\sigma}_{g(F2)}^2}{\hat{\sigma}_{g(F2)}^2 + \hat{\sigma}_{m(F2)}^2}$ e a herdabilidade no sentido restrito por

$$\hat{h}_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_{a(F2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F2)}^2} = \frac{\hat{\sigma}_{a(F2)}^2}{\hat{\sigma}_{a(F2)}^2 + \hat{\sigma}_d^2 + \hat{\sigma}_{m(F2)}^2} \text{ (CRUZ, 2009).}$$

A heterose ($\hat{H}$) foi estimada pela fórmula $\hat{H} = \bar{F}_1 - MP$, sendo $\bar{F}_1$ a média fenotípica da geração F_1 e MP a média fenotípica dos parentais (P_1 e P_2). A heterose percentual foi estimada por $\hat{H}(\%) = \frac{\hat{H} * 100}{MP}$. As estimativas do número mínimo de genes efetivos (n) foram

calculadas de acordo com a fórmula $n = \frac{D^2(1+0,5K^2)}{8\sigma_g^2}$, na qual D é a amplitude entre as médias

das linhagens parentais e K representa o grau médio de dominância baseado em variâncias,

sendo estimado por $K = \sqrt{\frac{2\sigma_d^2}{\sigma_a^2}}$, pelo programa GENES versão 7.0 (CRUZ, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISE DE MÉDIAS DAS GERAÇÕES

Para a avaliação da severidade da antracnose do colmo em milho, a maioria dos trabalhos utiliza uma escala de notas relativas ao número de internódios descoloridos (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987b; MORELLO, 2000; WELDEKIDAN; HAWK, 1993) ou a área de lesão interna do colmo (PEREIRA; BALMER; MIRANDA FILHO, 1989). Neste trabalho, além da avaliação do número de internódios descoloridos (INT), o comprimento externo (CEXT) e interno de lesão (CINT) foram utilizados por serem métodos diretos e não subjetivos de determinação da severidade, os quais foram eficientes para discriminar indivíduos resistentes e suscetíveis dentro das gerações.

A partir dos dados coletados, foi testada a homogeneidade das variâncias residuais dos dois experimentos para as variáveis CEXT, CINT e INT. A homocedasticidade das variâncias residuais foram verificadas a partir da razão entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo. Como para as três variáveis estudadas a relação foi inferior a sete, considerou-se os experimentos homogêneos (GOMES, 1990). Atendida essa pressuposição, realizou-se a análise de variância conjunta dos experimentos para as três variáveis. Os resultados da análise de variância conjunta demonstraram efeito altamente significativo ($Pr < 0,01$) das interações simples (experimentos x famílias; experimentos x gerações) e para a interação tripla (experimentos x famílias x gerações) para as variáveis CEXT, CINT e INT (dados não apresentados). Em função das avaliações fenotípicas evidenciarem comportamento diferenciado das famílias/gerações em relação aos experimentos, optou-se pela apresentação dos resultados das análises de variância e testes de médias para cada experimento.

Os resultados das análises de variância dos dois experimentos, demonstraram efeito altamente significativo ($Pr < 0,01$) da interação famílias x gerações para todas as variáveis

analisadas, o que indica a ocorrência de diferenças tanto das famílias dentro de cada geração, quanto das gerações dentro de cada família estudada (Tabelas 1 e 2). No primeiro experimento, houve diferenças significativas para as famílias e gerações para CEXT e CINT, com relação ao efeito de famílias (Tabela 1). Para o segundo experimento, os resultados da análise de variância evidenciaram efeito altamente significativo ($Pr < 0,01$) para todas as fontes de variação (famílias, gerações e a interação famílias x gerações) nas variáveis comprimento externo e interno de lesão e número de internódios descoloridos (Tabela 2).

Tabela 1. Resumo da análise de variância do 1º experimento para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) em função das famílias, gerações e da interação família x geração. Ponta Grossa, PR.

Fontes de Variação	Quadrado Médio (QM)			
	G.L.	CEXT	CINT	INT
Blocos	2	828,37	830,88*	2,83**
Famílias	8	657,25 *	1207,87 **	0,39
Resíduo (a)	16	239,16	162,49	0,28
Gerações	5	61394,97 **	62597,62 **	74,01 **
Fam. x Ger.	40	866,5 **	1243,76 **	0,47 **
Resíduo (b)	90	271,48	134,5	0,24
CV parcela (%)		31,9	23,9	17,3
CV subparcela (%)		33,9	22,0	16,1
Média		48,5	53,2	3,08

*, ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente; CV = coeficiente de variação; G.L. = grau de liberdade.

Os coeficientes de variação dos experimentos foram de pequena magnitude e adequados para estudos que envolvam a interação patógeno x hospedeiro de acordo com Matiello et al. (2012), Paterniani et al. (2000) e Zuber et al. (1981). Os coeficientes de variação (parcela e subparcela) do primeiro experimento foram ligeiramente superiores em relação ao segundo (Tabelas 1 e 2), possivelmente associados a flutuações ambientais de temperatura e umidade. As avaliações das variáveis CEXT, CINT e INT relativas ao segundo experimento refletiram normalmente em lesões maiores, uma vez que as condições ambientais desta semeadura (safrinha) foram mais propícias à colonização pelo patógeno. Esta observação está de acordo com Bergstrom e Nicholson (1999), que discutem sobre a dificuldade de controle desta doença em plantios tardios, nos quais o patógeno é endêmico.

Tabela 2. Resumo da análise de variância do 2º experimento para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) em função das famílias, gerações e da interação família x geração. Ponta Grossa, PR.

Fontes de Variação	Quadrado Médio (QM)			
	G.L.	CEXT	CINT	INT
Blocos	2	1887,18**	1011,01**	1,08**
Famílias	8	963,04 **	1134,23 **	1,04 **
Resíduo a	16	122,62	99,59	0,15
Gerações	5	78706,58 **	62459,24 **	111,78 **
Fam. x Ger.	40	506,39 **	837,4 **	0,3 **
Resíduo b	90	139,99	124,22	0,14
CV parcela (%)		21,2	20,5	12,3
CV subparcela (%)		22,7	22,9	12,2
Média		52,1	48,7	3,1

** significativo a 1% de probabilidade; CV = coeficiente de variação; G.L. = graus de liberdade.

A inoculação dos colmos de milho com *C. graminicola* nas diferentes gerações das respectivas famílias permitiu confirmar através das variáveis CEXT, CINT e INT que o isolado do patógeno apresentava-se patogênico, pois conferiu nas linhagens suscetíveis (L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4), independentemente do experimento, maior comprimento das lesões. A análise das médias das três variáveis estudadas confirmou diferenças altamente contrastantes entre as linhagens endogâmicas de milho utilizadas no desenvolvimento das famílias com relação à reação de resistência ou suscetibilidade à *C. graminicola* (Figura 3).

Para o comprimento externo de lesão, nos dois experimentos, as linhagens caracterizadas inicialmente por Torrecija (2012) como fonte de resistência (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1) apresentaram lesões variando de 2,5 a 16,6 cm (Tabelas 3 e 4), confirmando o grande potencial destas linhagens como fontes de genes de resistência à *C. graminicola*. Para este conjunto de linhagens, destaque positivo em relação à L_R 04-2, a qual demonstrou no máximo 7,5 cm de lesão externa (Tabela 3 e 4). Das três linhagens endogâmicas utilizadas como fonte de suscetibilidade à antracnose do colmo, a L_S 71-1 apresentou comprimento externo de lesão variando de 133 a 154,3 cm nos experimentos, com média de 140,9 cm, ao passo que as demais tiveram em média 116,8 (L_S 99-4) e 105,1 cm (L_S 95-1) nos respectivos experimentos (Tabelas 3 e 4, Figura 3).



Figura 3. Lesão interna da antracnose do colmo (*C. graminicola*) nas linhagens suscetíveis (A) L_S 71-1, (B) L_S 95-1, (C) L_S 99-4 e resistentes (D) L_R 04-2, (E) L_R 03-2 e (F) L_R 23-1. Ponta Grossa, PR.

Tabela 3. Efeito do desdobramento das gerações (L_R, L_S, F₁, F₂, RC₁ e RC₂) nas respectivas famílias para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) em cm e número de internódios descoloridos (INT) do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.

Gerações	Comprimento Externo de Lesão (CEXT)																	
	L _R 04-2 x L _S 71-1		L _R 04-2 x L _S 95-1		L _R 04-2 x L _S 99-4		L _R 03-2 x L _S 71-1		L _R 03-2 x L _S 95-1		L _R 03-2 x L _S 99-4		L _R 23-1 x L _S 71-1		L _R 23-1 x L _S 95-1		L _R 23-1 x L _S 99-4	
L _R	3,5	b*	2,5	c	3,3	c	6,7	b	4,4	b	14,8	c	3,7	c	4,1	c	16,6	cd
L _S	133,0	a	82,4	b	149,4	a	141,5	a	87,3	a	99,5	a	138,5	a	83,9	a	114,2	a
F ₁	14,4	b	18,6	c	7,2	c	14,1	b	8,5	b	27,4	bc	4,6	c	4,9	bc	13,3	d
F ₂	29,2	b	31,2	c	39,8	bc	35,9	b	25,6	b	52,1	bc	49,4	b	43,8	b	54,2	bc
RC ₁	13,1	b	22,4	c	10,8	c	21,2	b	15,2	b	19,9	c	5,9	c	12,3	bc	18,0	cd
RC ₂	114,9	a	137,4	a	72,2	b	138,7	a	103,0	a	64,5	ab	112,9	a	90,5	a	80,3	ab
Gerações	Comprimento Interno de Lesão (CINT)																	
	L _R 04-2 x L _S 71-1		L _R 04-2 x L _S 95-1		L _R 04-2 x L _S 99-4		L _R 03-2 x L _S 71-1		L _R 03-2 x L _S 95-1		L _R 03-2 x L _S 99-4		L _R 23-1 x L _S 71-1		L _R 23-1 x L _S 95-1		L _R 23-1 x L _S 99-4	
L _R	13,2	c	4,2	d	6,7	d	14,4	b	14,7	b	15,1	c	8,6	c	8,4	c	13,1	d
L _S	159,3	a	89,6	b	151,5	a	138,2	a	84,3	a	118,1	a	156,5	a	119,5	a	152,7	a
F ₁	15,0	c	22,2	cd	32,5	bcd	22,9	b	24,2	b	32,1	bc	10,8	c	8,1	c	13,9	d
F ₂	36,0	bc	37,6	c	35,8	bc	35,7	b	33,6	b	40,3	b	49,9	b	53,4	b	68,4	c
RC ₁	17,3	c	18,8	cd	15,7	cd	25,1	b	25,1	b	20,4	c	18,4	c	16,0	c	15,6	d
RC ₂	57,9	b	133,8	a	59,9	b	73,6	a	73,6	a	50,1	b	135,3	a	78,1	b	121,2	b
Gerações	Número de Internódios Descoloridos (INT)																	
	L _R 04-2 x L _S 71-1		L _R 04-2 x L _S 95-1		L _R 04-2 x L _S 99-4		L _R 03-2 x L _S 71-1		L _R 03-2 x L _S 95-1		L _R 03-2 x L _S 99-4		L _R 23-1 x L _S 71-1		L _R 23-1 x L _S 95-1		L _R 23-1 x L _S 99-4	
L _R	1,4	c	1,5	c	1,3	d	1,8	b	1,7	b	1,6	c	1,2	c	1,1	c	1,5	c
L _S	5,3	a	4,9	a	5,8	a	5,6	a	4,7	a	5,3	a	5,6	a	5,1	a	5,5	a
F ₁	1,4	c	2,1	bc	2,0	cd	1,9	b	1,7	b	2,3	bc	1,4	c	1,4	c	1,6	c
F ₂	2,8	b	2,9	b	2,6	c	2,9	b	2,8	b	3,3	b	3,4	b	3,1	b	4,1	b
RC ₁	2,3	bc	1,8	bc	1,6	cd	2,8	b	2,5	b	2,0	c	2,1	c	1,5	c	1,7	c
RC ₂	4,5	a	5,4	a	4,2	b	5,1	a	4,6	a	4,5	a	5,3	a	5,4	a	4,9	ab

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Efeito do desdobramento das gerações (L_R, L_S, F₁, F₂, RC₁ e RC₂) nas respectivas famílias para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) em cm e número de internódios descoloridos (INT) do segundo experimento. Ponta Grossa, PR.

Gerações	Comprimento Externo de Lesão (CEXT)																	
	L _R 04-2 x L _S 71-1		L _R 04-2 x L _S 95-1		L _R 04-2 x L _S 99-4		L _R 03-2 x L _S 71-1		L _R 03-2 x L _S 95-1		L _R 03-2 x L _S 99-4		L _R 23-1 x L _S 71-1		L _R 23-1 x L _S 95-1		L _R 23-1 x L _S 99-4	
L _R	6,3	b*	7,5	b	6,8	b	7,1	c	9,0	b	8,9	b	10,0	d	6,3	c	6,1	c
L _S	143,1	a	142,8	a	120,4	a	135,0	a	121,0	a	93,3	a	154,3	a	113,2	a	124,0	a
F ₁	11,5	b	4,8	b	3,8	b	7,6	c	10,0	b	8,3	b	28,5	cd	19,6	c	11,9	c
F ₂	31,5	b	32,3	b	29,0	b	33,2	c	31,7	b	35,7	b	55,6	c	60,4	b	79,5	b
RC ₁	13,0	b	9,5	b	7,9	b	6,6	c	13,5	b	11,9	b	10,9	d	15,7	c	12,4	c
RC ₂	148,1	a	122,1	a	100,3	a	106,5	b	99,1	a	78,6	a	97,3	b	130,6	a	121,7	a
Gerações	Comprimento Interno de Lesão (CINT)																	
	L _R 04-2 x L _S 71-1		L _R 04-2 x L _S 95-1		L _R 04-2 x L _S 99-4		L _R 03-2 x L _S 71-1		L _R 03-2 x L _S 95-1		L _R 03-2 x L _S 99-4		L _R 23-1 x L _S 71-1		L _R 23-1 x L _S 95-1		L _R 23-1 x L _S 99-4	
L _R	6,3	b	8,3	c	8,0	c	10,9	c	14,9	c	15,4	c	12,7	d	13,7	c	12,7	c
L _S	151,6	a	127,7	a	103,2	a	151,6	a	120,5	a	116,1	a	146,9	a	126,5	a	137,3	a
F ₁	10,4	b	10,6	c	7,9	c	11,4	c	24,4	c	11,3	c	20,2	cd	13,2	c	19,0	c
F ₂	31,5	b	30,2	bc	31,5	c	31,7	c	35,8	c	33,1	c	40,0	c	59,9	b	73,8	b
RC ₁	11,9	b	10,6	c	9,0	c	7,4	c	20,1	c	14,1	c	16,4	cd	29,0	c	13,9	c
RC ₂	137,7	a	40,6	b	73,9	b	71,7	b	68,8	b	80,3	b	78,7	b	128,5	a	36,9	c
Gerações	Número de Internódios Descoloridos (INT)																	
	L _R 04-2 x L _S 71-1		L _R 04-2 x L _S 95-1		L _R 04-2 x L _S 99-4		L _R 03-2 x L _S 71-1		L _R 03-2 x L _S 95-1		L _R 03-2 x L _S 99-4		L _R 23-1 x L _S 71-1		L _R 23-1 x L _S 95-1		L _R 23-1 x L _S 99-4	
L _R	1,1	c	1,3	c	1,3	b	1,5	bc	1,4	c	1,4	c	2,5	c	1,6	c	1,6	c
L _S	5,9	a	5,9	a	5,7	a	5,7	a	5,7	a	5,5	a	5,8	a	5,8	a	5,8	a
F ₁	1,3	c	1,2	c	1,3	b	1,3	c	1,4	c	1,2	c	1,5	d	1,4	c	1,6	c
F ₂	2,5	b	2,2	b	2,1	b	2,4	b	3,3	b	2,4	b	4,1	b	3,3	b	3,8	b
RC ₁	1,5	c	1,3	c	1,3	b	2,0	bc	1,8	c	1,5	c	1,6	d	1,8	c	1,5	c
RC ₂	5,4	a	5,4	a	5,4	a	5,5	a	5,5	a	5,4	a	5,7	a	5,6	a	5,7	a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Os valores médios do CEXT para a geração F_1 variaram de 4,6 a 27,4 cm no primeiro experimento e de 3,8 a 28,5 cm no segundo experimento. Os resultados desta variável indicaram similaridade na amplitude do comprimento externo de lesão entre os experimentos. Nos cruzamentos onde a linhagem L_R 04-2 foi utilizada como fonte de resistência, o CEXT da geração F_1 foi em média de 10,1 cm e de 12,7 e 13,8 cm para as linhagens L_R 03-2 e L_R 23-1, respectivamente (Tabelas 3 e 4). De maneira geral, os resultados demonstraram que as médias da variável CEXT da geração híbrida (F_1) foram bem próximas às linhagens resistentes, e estão de acordo aos encontrados por Badu-Apraku, Gracen e Bergstrom (1987b), os quais observaram que as plantas da geração F_1 , oriundas do cruzamento entre as linhagens LB31 (resistente) e B37 (suscetível) apresentavam resistência à *C. graminicola*.

Para a geração F_2 , o comprimento externo de lesão variou de 25,6 a 79,5 cm nos dois experimentos, evidenciando para as nove famílias avaliadas um comportamento intermediário entre os parentais utilizados nos respectivos cruzamentos. Percebe-se que quando a L_R 23-1 participou dos cruzamentos a média da CEXT foi mais elevada que as demais para esta geração (57,2 cm), enquanto que os cruzamentos que envolveram a L_R 04-2 a média da geração foi de 32,2 cm e de 35,7 cm para a linhagem L_R 03-2 (Tabelas 3 e 4, Figura 4).

As médias da variável CEXT para os retrocruzamentos (RC_1 's) tenderam para a maior resistência, com comprimento externo de lesão muito similar às linhagens parentais resistentes, demonstrando uma amplitude de 5,9 à no máximo 22,4 cm de lesão (Tabelas 3 e 4), confirmando o esperado para essa geração. Estes resultados estão de acordo com Matiello et al. (2012), em que o retrocruzamento (RC_1) envolvendo o parental resistente DAS64, apresentou fenótipo equivalente à fonte de resistência utilizada.

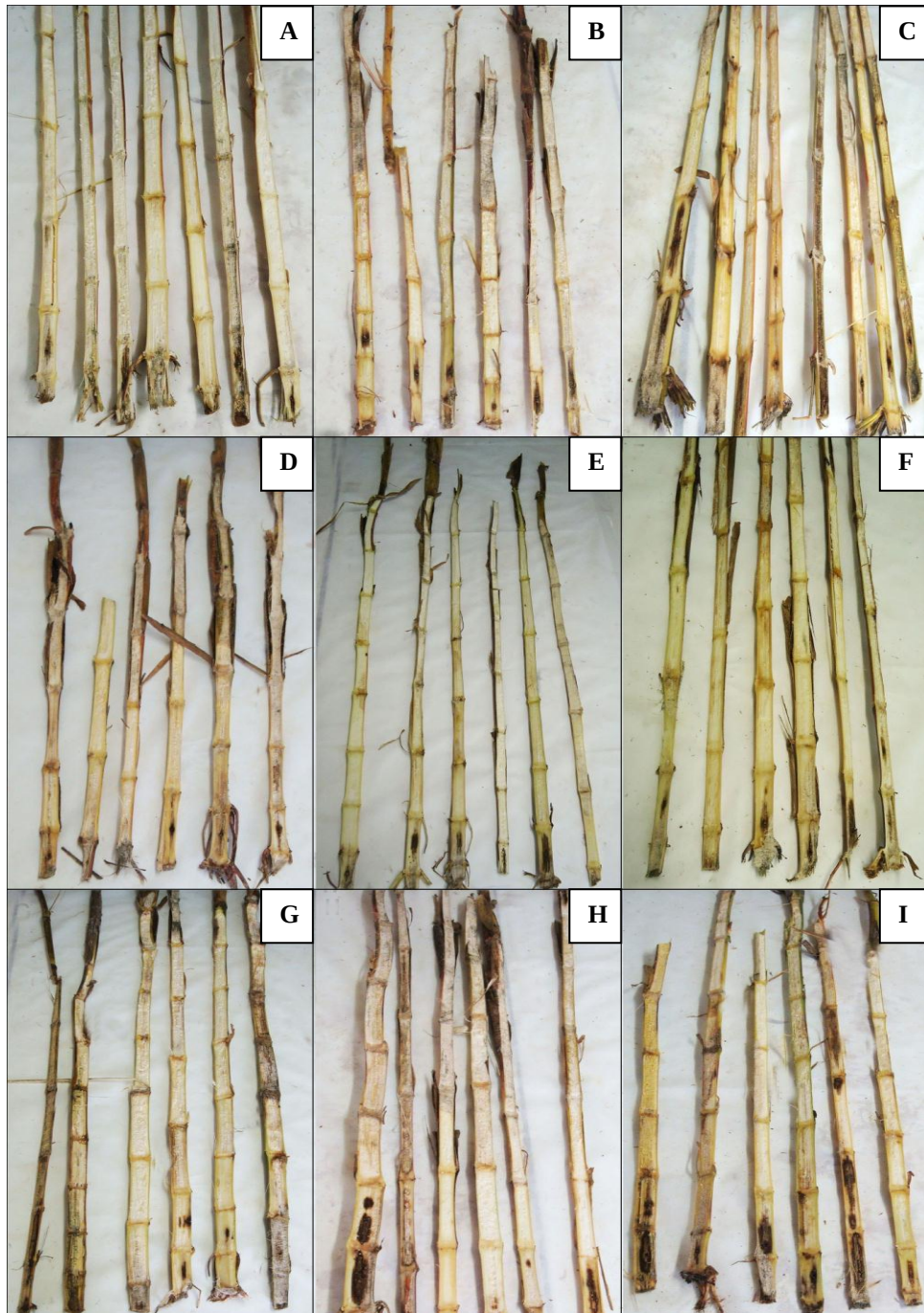


Figura 4. Lesão interna da antracnose do colmo (*C. graminicola*) numa amostra da geração F_2 dos cruzamentos: (A) L_R 04-2 x L_S 71-1, (B) L_R 04-2 x L_S 95-1, (C) L_R 04-2 x L_S 99-4, (D) L_R 03-2 x L_S 71-1, (E) L_R 03-2 x L_S 95-1, (F) L_R 03-2 x L_S 99-4; (G) L_R 23-1 x L_S 71-1, (H) L_R 23-1 x L_S 95-1 e (I) L_R 23-1 x L_S 99-4. Ponta Grossa, PR.

Médias elevadas para o CEXT foram encontradas para as gerações RC_2 's, onde os valores variaram de 64,5 a 148,1 cm, próximos aos encontrados para as linhagens suscetíveis L_S 71-1, L_S 95-1e L_S 99-4 (Tabelas 3 e 4). Particularmente, para a família oriunda do cruzamento L_R 04-2 x L_S 95-1 do primeiro experimento, a média do RC_2 revelou

comportamento transgressivo em relação à linhagem suscetível L_S 95-1, com média de 137,4 cm (Tabela 3).

Para o comprimento interno de lesão (CINT), as linhagens resistentes demonstraram amplitude de 4,2 a 15,4 cm nos respectivos experimentos. Os resultados evidenciaram que a linhagem L_R 03-2 na média dos experimentos apresentou maior lesão interna com 14,2 cm, seguida pela L_R 23-1 com 11,5 cm e 7,8 cm para a L_R 04-2 (Tabelas 3 e 4). O padrão de resistência observado para as linhagens L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1 foi superior ao inicialmente relatado por Torrecija (2012), o qual demonstrou comprimento interno de lesão variando de 13 a 42 cm.

Para o conjunto de linhagens suscetíveis L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4, pela ausência de genes de resistência, a amplitude de variação do CINT foi de 84,3 a 159,3 cm (Tabelas 3 e 4). Este padrão de suscetibilidade à *C. graminicola* foi muito superior ao relatado por Matiello et al. (2012) para a linhagem suscetível DAS86, a qual apresentou em média 46 cm de lesão interna. Por outro lado, muito similar ao relatado por Gardingo (2008) para a variedade crioula de milho Caiano Rajado, que mediante inoculação dos colmos resultou num CINT de 157 cm. Similarmente ao CEXT, a avaliação do CINT nos experimentos permitiu evidenciar o elevado contraste fenotípico existente entre as linhagens resistentes e suscetíveis à *C. graminicola* (Figura 3).

Para a geração F₁ das nove famílias estudadas, o CINT variou de 7,9 a 32,5 cm considerando os dois experimentos, confirmando o padrão de resistência que as linhagens L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1 transmitem à geração híbrida (F₁). Na média dos experimentos, a geração F₁ obtida pelo cruzamento das três linhagens suscetíveis com a fonte de resistência L_R 23-1 apresentou CINT médio de 14,2 cm, seguido da L_R 04-2 com 16,4 cm e de 21,1 cm quando utilizada a L_R 03-2 (Tabelas 3 e 4). Para o segundo experimento, destaque positivo

para os híbridos que continham a fonte de resistência L_R 04-2, pois o CINT máximo foi de apenas 10,6 cm na família advinda do cruzamento entre L_R 04-2 e a L_S 95-1 (Tabela 4).

No primeiro e segundo experimentos, a geração de máxima segregação (F₂) apresentou comprimento interno de lesão variando de 30,2 a 73,8 cm, confirmando o comportamento intermediário entre os parentais conforme relatado para o CEXT. Entretanto, quando a L_S 99-4 foi utilizada como parental suscetível, os valores em média foram um pouco mais elevados (47,15 cm) em comparação às demais linhagens suscetíveis utilizadas nos cruzamentos (Tabelas 3 e 4).

Os resultados das análises de distribuição de frequência da geração F₂, para a variável comprimento interno de lesão (CINT), nos dois experimentos, demonstraram uma tendência para a maior resistência, independente da linhagem resistente utilizada no cruzamento (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1). De maneira geral, a distribuição dos indivíduos da geração F₂ para o CINT, confirmou o contraste fenotípico das linhagens resistentes (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1) em relação às linhagens suscetíveis (L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4). As linhagens resistentes sempre estiveram ranqueadas na primeira classe fenotípica com menor comprimento interno de lesão (0 a 16,4 cm) (Figuras 5 a 10). Este padrão de distribuição das linhagens resistentes foi similar à geração F₁ das respectivas famílias, com distribuição não superior a segunda classe (16,5 a 32,9 cm). Por outro lado, as linhagens suscetíveis ranquearam pelo menos na sexta classe fenotípica (82,4 a 98,8 cm), como por exemplo, a linhagem L_S 95-1 (Figuras 5 a 10).

Para a geração F₂ do cruzamento L_R 04-2 x L_S 71-1, a grande maioria dos indivíduos (67%) distribuíram-se nas duas primeiras classes fenotípicas do CINT (0 a 32,9 cm), levando-se em consideração os dois experimentos. Este mesmo comportamento foi observado para a geração F₂ dos cruzamentos L_R 04-2 x L_S 95-1 (63,4%) e L_R 04-2 x L_S 99-4 (66,1%) (Figuras 5 e 6). Da mesma forma, o padrão de distribuição das famílias L_R 03-2 x L_S 71-1, L_R 03-2 x

L_S 95-1 e L_R 03-2 x L_S 99-4 tendeu para a maior resistência com frequência mínima nas duas primeiras classes de 57,2% na L_R 03-2 x L_S 99-4 a 62% na L_R 03-2 x L_S 71-1 (Figuras 7 e 8). Embora a distribuição da maioria dos indivíduos da geração F₂, para as famílias obtidas através da L_R 23-1, esteja compreendida nas duas primeiras classes fenotípicas (0 a 32,9 cm), visualiza-se que as frequências nas respectivas classes foram numericamente inferiores em relação aos cruzamentos em que os genitores resistentes foram as linhagens L_R 04-2 e a L_R 03-2 (Figuras 9 e 10). Analogamente, Rezende et al. (2004), estudando a herança da resistência à antracnose foliar, relataram que a distribuição de frequência dos indivíduos da geração F₂ tendeu para a maior resistência.

Os resultados da distribuição de frequência (Figuras 5 a 10) evidenciaram que as fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 03-2) foram mais eficientes na transferência dos possíveis genes de resistência para as respectivas famílias. Percebe-se que, as famílias que envolveram a L_R 23-1 apresentaram sensível redução na frequência dos indivíduos mais resistentes. Por hipótese, a L_R 23-1 apesar de transmitir genes de resistência aos descendentes, possivelmente possua alelos de suscetibilidade à *C. graminicola* em sua constituição genética. Esta suposição é válida, pois Matiello (2004) localizou por mapeamento molecular, alelos de suscetibilidade na linhagem utilizada como fonte de resistência à antracnose do colmo (DAS21). Adicionalmente, os alelos de resistência presentes na L_R 23-1 poderiam ser pouco efetivos, o que explicaria a menor frequência de indivíduos altamente resistentes nos cruzamentos em que a mesma participou.

Para as nove famílias dos dois experimentos, foi possível constatar efeito transgressivo da geração F₂ tanto para a maior resistência em relação às linhagens resistentes (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1), quanto para a maior suscetibilidade quando comparado com as linhagens suscetíveis L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4 (Figuras 5 a 10).

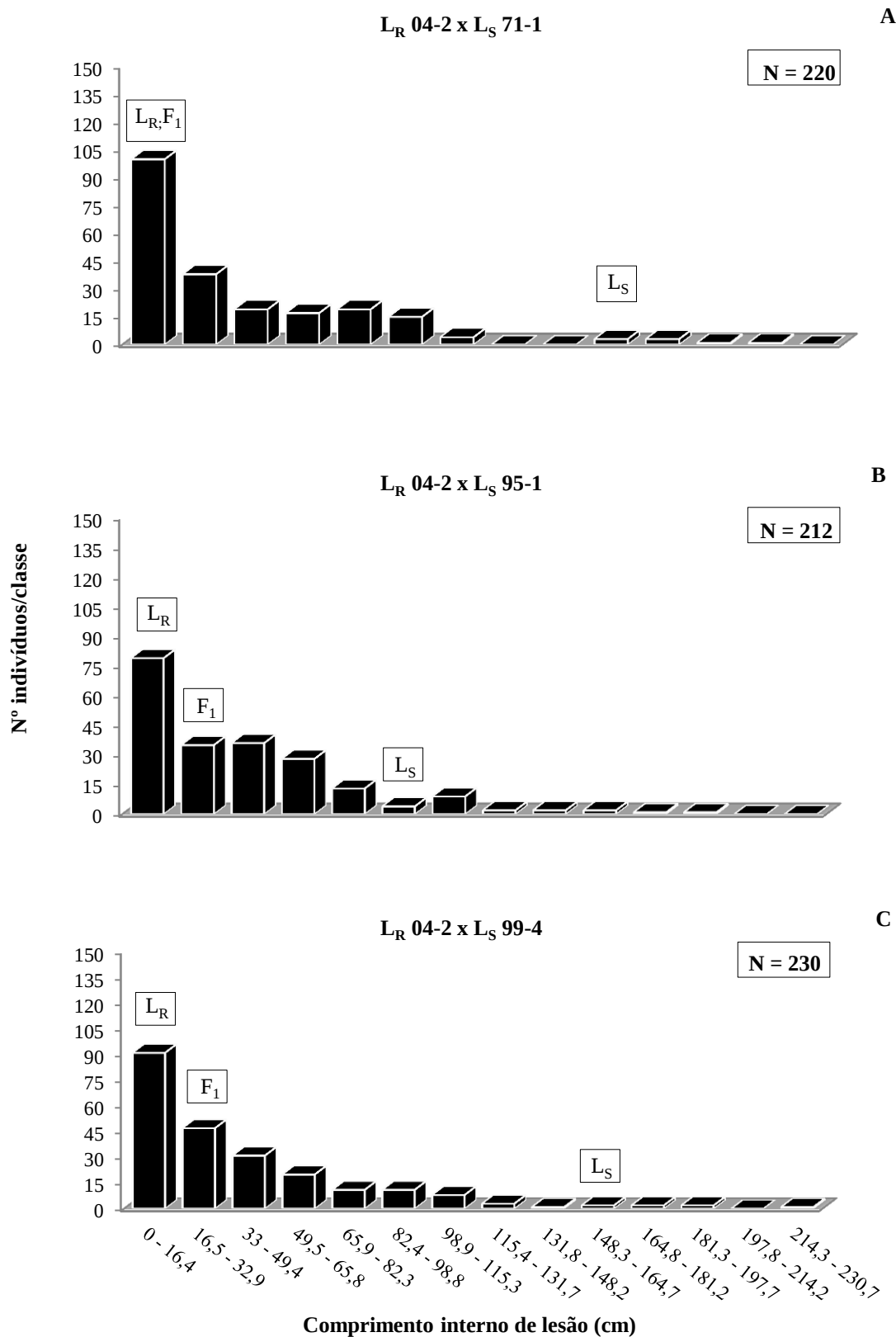


Figura 5. Número de indivíduos da geração F₂ nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 04-2 x L_S 71-1, (B) L_R 04-2 x L_S 95-1 e (C) L_R 04-2 x L_S 99-4, no primeiro experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F₁ = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F₂. Ponta Grossa, PR.

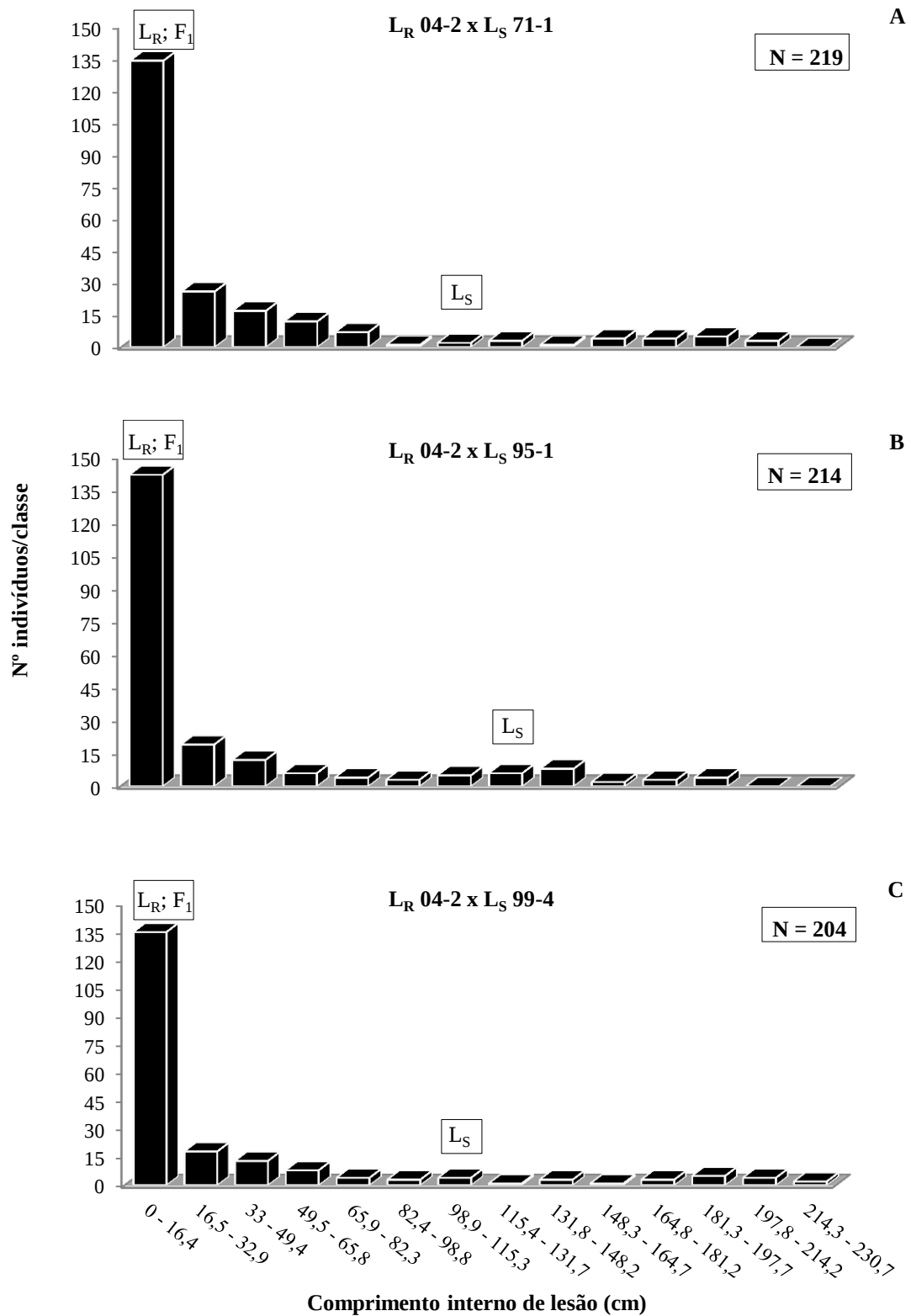


Figura 6. Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 04-2 x L_S 71-1, (B) L_R 04-2 x L_S 95-1 e (C) L_R 04-2 x L_S 99-4, no segundo experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR.

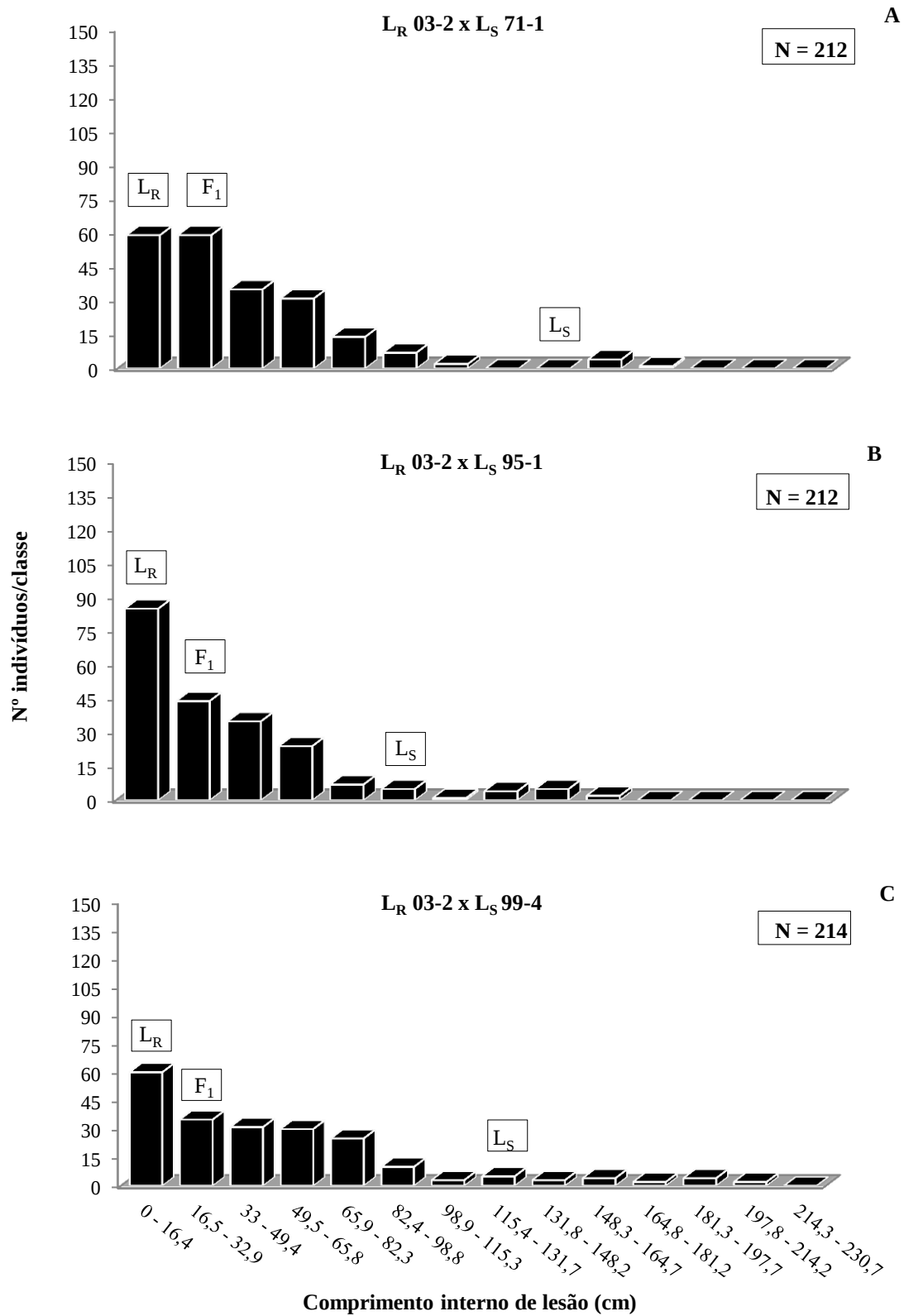


Figura 7. Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 03-2 x L_S 71-1, (B) L_R 03-2 x L_S 95-1 e (C) L_R 03-2 x L_S 99-4, no primeiro experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR.

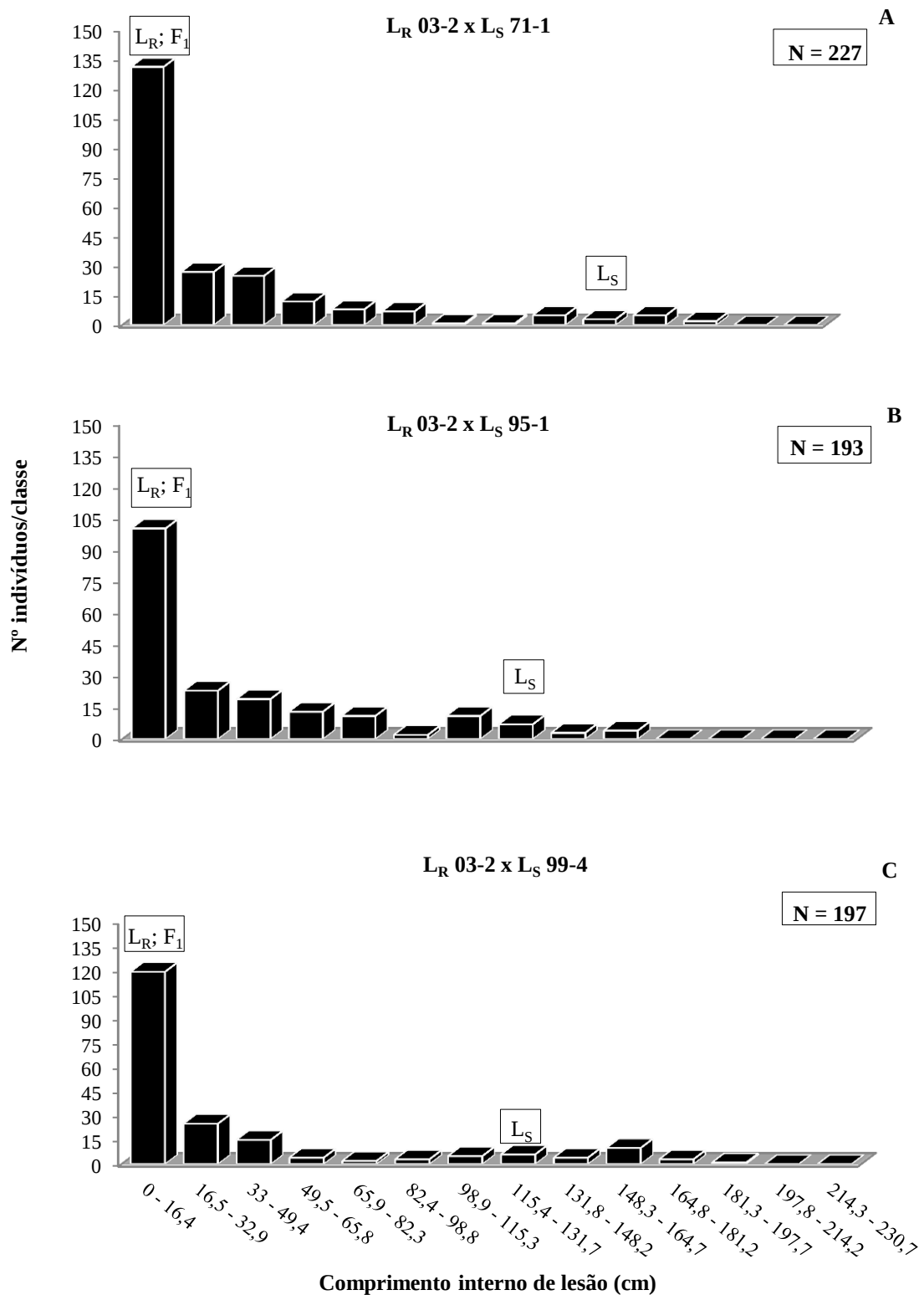


Figura 8. Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 03-2 x L_S 71-1, (B) L_R 03-2 x L_S 95-1 e (C) L_R 03-2 x L_S 99-4, no segundo experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR.

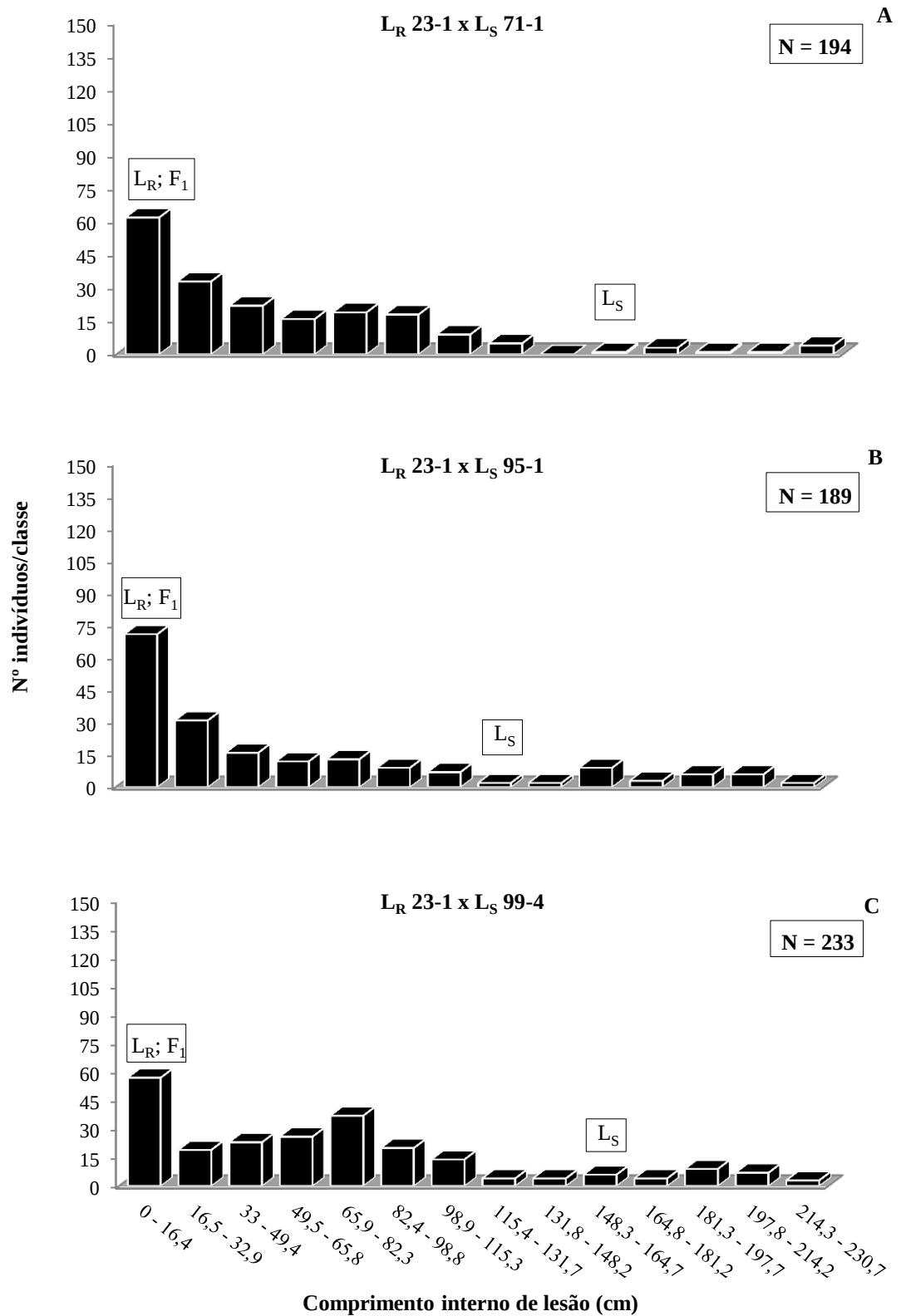


Figura 9. Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 23-1 x L_S 71-1, (B) L_R 23-1 x L_S 95-1 e (C) L_R 23-1 x L_S 99-4, no primeiro experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR.

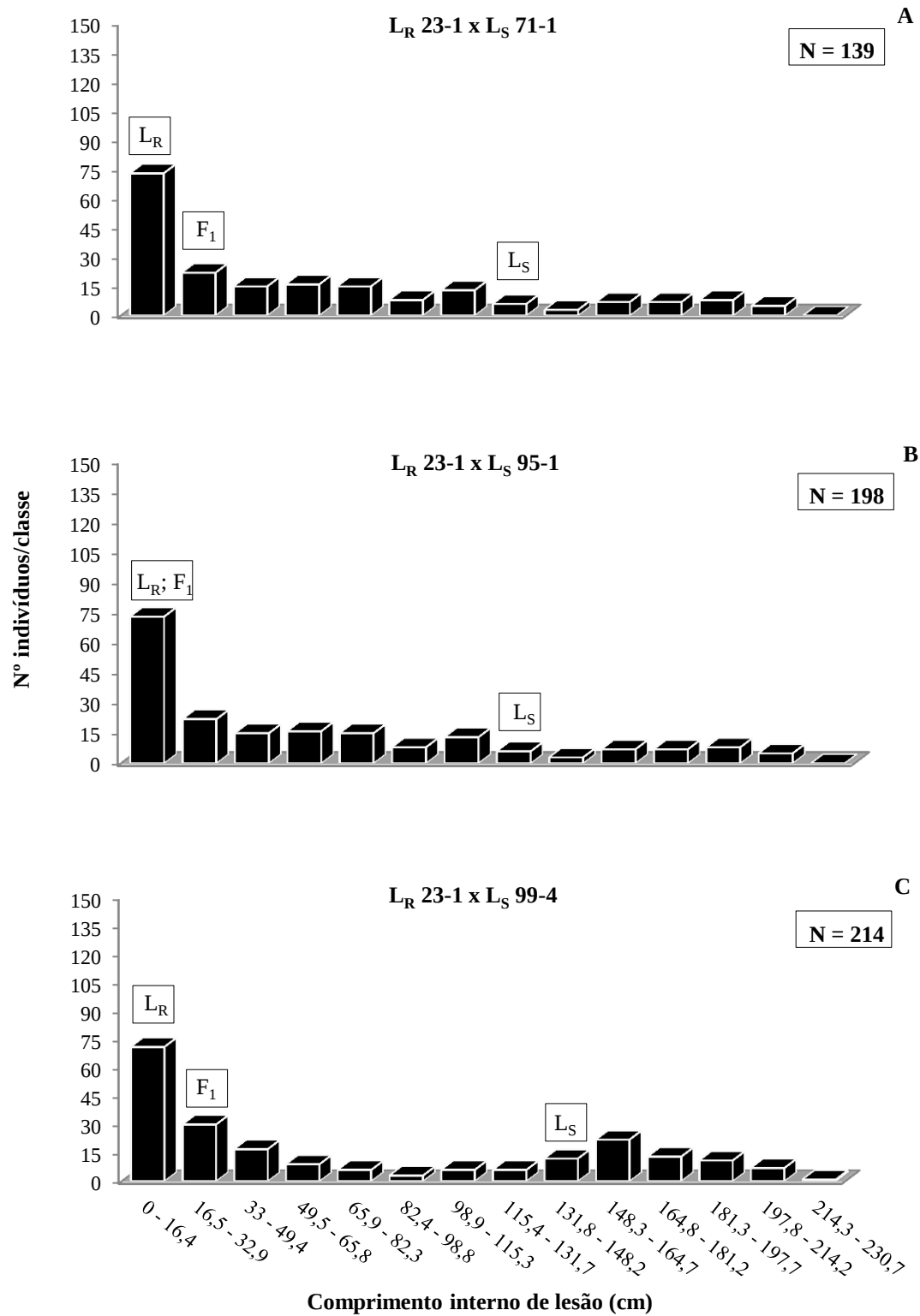


Figura 10. Número de indivíduos da geração F_2 nas respectivas classes fenotípicas do comprimento interno de lesão (CINT) em cm, nas famílias: (A) L_R 23-1 x L_S 71-1, (B) L_R 23-1 x L_S 95-1 e (C) L_R 23-1 x L_S 99-4, no segundo experimento. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F_1 = geração filial L_R x L_S e N = número total de indivíduos da geração F_2 . Ponta Grossa, PR.

As médias do CINT para as gerações de retrocruzamento (RC_1 e RC_2) demonstraram comportamento clássico, ou seja, quando o retrocruzamento envolveu as linhagens resistentes (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1), a média da geração RC_1 tendeu para a maior resistência com CINT variando de 7,9 a 32,5 cm e quando no retrocruzamento (RC_2) estavam presentes as linhagens suscetíveis (L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4), o comprimento médio de lesão foi muito superior, com amplitude variando de 36,9 a 137,7 cm nos experimentos (Tabelas 3 e 4). Esses resultados estão de acordo com outros estudos relacionados ao controle genético da resistência à antracnose do colmo (CARSON; HOOKER, 1981; MATIELLO et al., 2012; TOMAN; WHITE, 1993).

Alguns trabalhos referentes ao controle genético da resistência de milho à podridão do colmo têm avaliado a doença com base na área lesionada dos colmos (CHAMBERS, 1987; PEREIRA; BALMER; MIRANDA FILHO, 1989). A grande limitação desta forma de avaliação diz respeito aos possíveis erros associados à determinação da área lesionada, uma vez que a colonização do patógeno não é uniforme no interior do colmo, bem como a variação existente no diâmetro dos entrenós em função da posição no colmo. De modo geral, a grande maioria dos trabalhos utiliza uma escala de notas relativas ao número de internódios descoloridos (BLUM et al., 2003; CARSON; HOOKER, 1981; DENTI; REIS, 2001; FREY et al., 2011; HOLLEY, 1988; HOOKER, 1976; JUNG et al., 1994; KELLER; BERGSTROM, 1988; TOMAN; WHITE, 1993; YANG et al., 2005). Neste sentido, optou-se também por avaliar a resistência e/ou suscetibilidade à antracnose do colmo através do número de internódios descoloridos (INT) a partir do ponto de inoculação.

As avaliações da variável INT demonstraram para os dois experimentos que as linhagens resistentes L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1, evidenciaram elevado padrão de resistência à *C. graminicola*, uma vez que a descoloração dos internódios destas linhagens ficou restrita em média a 1,49 internódios (Tabelas 3 e 4). Esses resultados corroboram aos encontrados por

Carson e Hooker (1981), onde a linhagem resistente A556 apresentou INT variando de 1,04 a 1,34. Similarmente, Badu-Apraku; Gracen e Bergstrom (1987b) relataram que a linhagem LB31 resistente à antracnose do colmo não ultrapassou a 1,0 internódio descolorido. Recentemente, Frey et al. (2011), encontraram em média 1,6 internódios descoloridos para as linhagens que continham o gene de resistência *Rcg1*. No presente trabalho, as linhagens suscetíveis L_S 71-1, L_S 95-1 e L_S 99-4 apresentaram na média dos experimentos 5,53 internódios descoloridos, com amplitude variando de 4,7 a 5,9 (Tabelas 3 e 4). Como a avaliação do INT limitou-se ao sexto internódio dos colmos, muitas plantas das linhagens suscetíveis ultrapassaram a nota máxima da escala (nota 6), enfatizando assim a elevada suscetibilidade destas linhagens nos dois experimentos.

A geração F₁ de todos os cruzamentos dos experimentos apresentou comportamento muito semelhante às linhagens resistentes (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1), evidenciando que as duas gerações (L_R's e F₁'s) obtiveram INT médio de 1,5 (Tabelas 3 e 4). Estes resultados confirmam o potencial genético das linhagens resistentes em transmitir esta característica para as respectivas gerações filiais (F₁) dos cruzamentos.

Para a geração F₂ constatou-se que todos os cruzamentos apresentaram número de internódios descoloridos intermediário às gerações parentais (L_R e L_S), com amplitude de 2,1 no cruzamento L_R 04-2 x L_S 99-4 a 4,1 nos cruzamentos L_R 23-1 x L_S 71-1 e L_R 23-1 x L_S 99-4 (Tabelas 3 e 4). Analogamente ao CEXT e CINT, quando a linhagem resistente L_R 23-1 foi utilizada nos cruzamentos para gerar as populações segregantes houve tendência para a maior suscetibilidade, com número médio de INT variando de 3,1 a 4,1 (Tabelas 3 e 4). Badu-Apraku; Gracen e Bergstrom (1987b) encontraram resultados semelhantes para o cruzamento LB31 (resistente) x B37 (suscetível) para à antracnose do colmo. Os autores relataram que a geração F₁ foi totalmente resistente e a geração F₂ com 71,4% dos indivíduos ranqueados como resistentes.

Para as gerações de retrocruzamento, quando o retrocruzamento envolveu as linhagens resistentes (RC₁'s), o número médio de internódios descoloridos variou de 1,3 a 2,8 e quando as linhagens suscetíveis foram utilizadas (RC₂'s), a amplitude foi de 4,2 a 5,7 confirmando o esperado para essas gerações (Tabelas 3 e 4).

Neste trabalho foram utilizadas três formas distintas para avaliar a resistência à antracnose do colmo (comprimento externo/ interno de lesão e número de internódios descoloridos) em indivíduos de diferentes famílias/gerações de cruzamentos controlados. Está evidente que independentemente da forma de avaliação da doença, os resultados apresentados demonstraram o mesmo comportamento, ou seja, padrão altamente resistente (linhagens resistentes, gerações F₁'s e RC₁'s), intermediário (gerações F₂'s) e altamente suscetível (linhagens suscetíveis e gerações RC₂'s). Esta constatação pode ser confirmada através dos coeficientes de correlação entre as variáveis CEXT, CINT e INT (Tabela 5).

De maneira geral, as análises de correlação evidenciaram elevada associação positiva e altamente significativa para as três variáveis. A avaliação direta da lesão através do CEXT e CINT revelaram coeficientes mais elevados entre si, variando de 0,92 a 0,94. Da mesma forma, os coeficientes do CEXT e CINT em relação a variável INT foram elevados, com amplitude de 0,82 a 0,90 nos respectivos experimentos (Tabela 5). Esses resultados permitem inferir que a avaliação desta doença poderia ser realizada apenas com o comprimento externo de lesão, o que facilitaria a fenotipagem da resistência e/ou suscetibilidade nos programas de melhoramento da cultura aliado a economia no tempo e no número de avaliadores necessários para esta atividade a campo.

Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT), para o primeiro e segundo experimento. Ponta Grossa, PR.

Variáveis	1º Experimento		2º Experimento	
	CINT	INT	CINT	INT
CEXT	0,92**	0,82**	0,94**	0,90**
CINT		0,85**		0,90**

** Significativo a 1% de probabilidade.

4.2. ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS

A estimativa dos parâmetros genéticos populacionais possibilita direcionar nos programas de melhoramento, a incorporação de genes de resistência em germoplasmas suscetíveis, bem como aumentar os ganhos com a seleção artificial através da escolha do método de seleção mais adequado. Neste trabalho, os parâmetros genéticos foram estimados para as variáveis (CEXT, CINT e INT) através do modelo completo de Mather e Jinks (1971), a fim de verificar a variabilidade genética existente entre as linhagens endogâmicas, assim como determinar o controle genético envolvido na resistência do milho à *C. graminicola*.

A decomposição da variância genética (Tabela 6), em relação às nove famílias para a variável CEXT demonstrou que a variância devido aos efeitos aditivos explicou de 36,05 a 93,52% da variação encontrada entre as famílias para o primeiro experimento, embora para as famílias derivadas dos cruzamentos L_R 03-2 x L_S 71-1 e L_R 03-2 x L_S 95-1 a análise genética evidenciou efeitos consideráveis da interação epistática (aditivo x aditivo), explicando 16,1 e 20,9 % da variação genética, respectivamente.

No segundo experimento as análises revelaram um sensível incremento na variância genética devido aos efeitos aditivos dos genes, com amplitude de 76,59 a 97,26% (Tabela 7). Os demais efeitos estimados do modelo foram irrelevantes e de baixa magnitude. Pode ser observado que das famílias estudadas, sete apresentaram efeitos genéticos aditivos superiores a 90%. A prevalência de efeitos aditivos no controle genético da resistência à antracnose do colmo indica uma condição bastante favorável ao melhoramento, não ocorrendo dificuldades na identificação e seleção de genótipos, com maior concentração de alelos favoráveis. Os resultados da decomposição da variância genética estão de acordo com Carson e Hooker (1981) e Toman e White (1993), os quais relataram efeitos aditivos explicando mais de 90% da variação entre as médias das gerações. Da mesma forma, Jung et al. (1994) constataram

que a aditividade foi a maior responsável pela variação genética nas populações estudadas, com índices variando de 80 a 99%.

Para o comprimento interno de lesão, os efeitos genéticos aditivos foram de importância primária para todas as famílias avaliadas, com amplitude de 34,4 a 95,73% para o primeiro experimento (Tabela 6). A decomposição do modelo genético para o segundo experimento (Tabela 7) também evidenciou a maior contribuição dos efeitos aditivos para o controle da resistência, com 85,1% no cruzamento L_R 04-2 x L_S 95-1 a 98,07% no cruzamento L_R 23-1 x L_S 95-1. Destaca-se que na média das nove famílias, a aditividade foi responsável por mais de 92% da variância genética do modelo.

A avaliação da resistência à antracnose do colmo através do número de internódios descoloridos (INT) é considerada uma metodologia indireta de quantificação da doença, pois não leva em consideração o comprimento real da lesão ocasionada por *C. graminicola*. Apesar de a avaliação ser baseada numa escala de notas, os resultados refletiram em maior uniformidade na caracterização fenotípica das famílias/gerações dos dois experimentos. Essa uniformidade afetou diretamente a magnitude das estimativas dos parâmetros genéticos envolvidos no controle genético da resistência nestas famílias. Para o primeiro experimento, os efeitos aditivos explicaram de 66,64 a 97,96% da variação entre as médias das famílias, ao passo que no segundo, sensível incremento foi observado com amplitude de 89,89 no cruzamento L_R 23-1 x L_S 99-4 a 99,66% na família procedente do cruzamento L_R 04-2 x L_S 71-1 (Tabelas 6 e 7). Na média dos experimentos, as famílias oriundas da L_R 04-2 demonstraram efeito aditivo superior a 91%, enquanto a L_R 23-1 e a L_R 03-2 explicaram 88,25 e 86,33%, respectivamente (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6. Percentagem da variação do comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) da antracnose do colmo explicada pelos efeitos aditivos ($\hat{a}$), dominante ($\hat{d}$) e interações epistáticas ($\hat{aa}$, $\hat{adedd}$) para cada família do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.

Efeitos	Comprimento Externo de Lesão (CEXT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
m	0,86	0,95	2,44	4,61	3,28	16,59	0,76	0,69	3,53
$\hat{a}$	71,93	65,30	93,52	52,9	36,05	63,14	91,73	60,71	90,23
$\hat{d}$	5,58	9,11	0,93	11,07	12,77	4,72	0,99	7,52	0,63
$\hat{aa}$	12,13	8,26	0,14	16,14	20,88	4,73	0,67	7,49	1,02
$\hat{ad}$	0,89	3,32	2,61	2,69	8,22	8,41	1,36	9,49	0,27
$\hat{dd}$	8,60	13,06	0,35	12,59	18,79	2,41	4,47	14,10	4,31
Efeitos	Comprimento Interno de Lesão (CINT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
m	1,50	0,18	3,43	7,95	3,65	22,3	0,89	6,06	26,4
$\hat{a}$	95,73	69,37	86,29	38,65	34,4	43,53	78,92	59,92	54,55
$\hat{d}$	0,36	7,56	2,12	14,51	15,03	8,26	4,97	1,22	6,52
$\hat{aa}$	0,16	9,26	0,20	18,67	18,02	5,29	5,55	0,32	7,07
$\hat{ad}$	2,09	4,10	5,96	4,29	7,42	13,62	1,65	23,30	3,38
$\hat{dd}$	0,15	9,53	1,99	15,92	21,46	6,99	8,02	9,18	2,07
Efeitos	Número de Internódios Descoloridos (INT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
m	5,04	0,06	1,75	0,30	0,79	14,71	1,56	15,83	20,49
$\hat{a}$	87,75	66,64	97,96	67,09	96,91	71,23	97,58	75,79	75,76
$\hat{d}$	1,32	9,52	0,11	9,90	0,20	2,38	0,001	2,41	0,29
$\hat{aa}$	0,76	5,93	0,08	8,33	0,28	2,57	0,06	1,99	2,24
$\hat{ad}$	4,68	3,92	0,08	0,17	1,04	7,98	0,55	3,63	0,14
$\hat{dd}$	0,45	13,92	0,01	14,20	0,78	1,12	0,24	0,33	1,08

Tabela 7. Percentagem da variação do comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) da antracnose do colmo explicada pelos efeitos aditivos ($\hat{a}$), dominante ($\hat{d}$) e interações epistáticas ($\hat{aa}$, $\hat{adedd}$) para cada família do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.

Efeitos	Comprimento Externo de Lesão (CEXT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
m	2,39	5,18	0,50	0,01	1,14	2,79	1,84	0,40	6,69
$\hat{a}$	96,76	85,85	97,26	91,02	76,59	93,23	91,30	92,57	90,05
$\hat{d}$	0,16	2,78	0,12	1,64	6,20	0,01	0,19	1,08	0,42
$\hat{aa}$	0,14	0,42	0,87	3,4	7,29	0,14	0,48	0,59	1,78
$\hat{ad}$	0,52	4,10	0,40	0,01	0,00	2,63	4,73	2,03	0,83
$\hat{dd}$	0,020	1,67	0,85	3,92	8,78	1,21	1,46	3,32	0,23
Efeitos	Comprimento Interno de Lesão (CINT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
m	0,79	6,15	4,48	2,55	0,57	3,75	4,74	0,68	6,32
$\hat{a}$	97,10	85,10	93,12	92,63	94,36	89,31	91,54	98,07	87,09
$\hat{d}$	0,014	2,81	0,06	0,04	0,65	0,19	0,03	0,11	1,74
$\hat{aa}$	1,22	0,34	0,08	0,98	2,36	0,15	0,01	0,07	1,99
$\hat{ad}$	0,52	3,90	1,7	3,72	0,55	6,53	3,14	0,15	2,42
$\hat{dd}$	0,35	1,69	0,55	0,08	1,51	0,07	0,54	0,90	0,43
Efeitos	Número de Internódios Descoloridos (INT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
m	0,05	1,57	1,64	2,90	2,07	0,54	1,75	5,21	4,97
$\hat{a}$	99,66	96,99	97,57	91,42	95,95	95,37	97,49	92,97	89,89
$\hat{d}$	0,05	0,36	0,026	0,74	0,008	0,70	0,002	0,45	0,97
$\hat{aa}$	0,10	0,03	0,072	0,16	0,032	1,61	0,06	0,59	1,10
$\hat{ad}$	0,01	0,88	0,64	4,40	1,82	0,02	0,33	0,77	2,84
$\hat{dd}$	0,13	0,17	0,044	0,37	0,11	1,75	0,36	0,0002	0,22

De maneira geral, o predomínio da ação gênica aditiva nas nove famílias, é um bom indicativo de que a seleção baseada nos indivíduos resistentes resultará em significativo progresso genético com a seleção artificial. Se o objetivo for incrementar a resistência das populações segregantes do programa, o método de seleção massal possibilitaria um rápido ganho genético. Por outro lado, se a finalidade for a obtenção de linhagens endogâmicas resistentes à antracnose do colmo, os métodos genealógico e do retrocruzamento podem ser recomendados.

A herdabilidade no sentido amplo reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, ou seja, quantifica a confiabilidade do valor fenotípico correlacionada ao valor genotípico total (ROSSMAN, 2001). No primeiro experimento, os coeficientes de herdabilidade no sentido amplo para o CEXT variaram de 77,96 para o cruzamento L_R 23-1 x L_S 99-4 a 99,41% para o cruzamento L_R 23-1 x L_S 71-1 (Tabela 8). Das nove famílias analisadas, três apresentaram na média dos experimentos coeficientes de herdabilidade superiores a 97%, as quais possuem na sua constituição genética a L_R 04-2 como fonte de resistência (Tabelas 8 e 9).

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo para às variáveis comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) demonstraram valores elevados e consistentes entre os experimentos (Tabelas 8 e 9). Para o CINT, a amplitude variou de 84,04 a 99,03% e para o INT de 65,46 a 98,24%. Da mesma forma, a fonte L_R 04-2 possibilitou para as variáveis CINT e INT os maiores coeficientes de herdabilidade no sentido amplo, com valores médios de 95,49 para o CINT e de 90,41% para o INT. As elevadas estimativas dos coeficientes de herdabilidade no sentido amplo para as três variáveis analisadas nos experimentos, indicam a baixa participação do ambiente na expressão da resistência e pressupõem facilidade no processo de seleção artificial em função da ampla variabilidade genética existente nas populações segregantes da geração F_2 . Esses resultados

foram similares aos relatados por Torrecija (2012), que estudando a resistência à antracnose do colmo em linhagens endogâmicas de milho estimou coeficientes de herdabilidade no sentido amplo de 98 e 96,5%, para o comprimento externo e interno de lesão, respectivamente.

A herdabilidade no sentido restrito ($\hat{h}_r^2$) quantifica a importância relativa da variância fenotípica em relação à proporção aditiva da variância genética total, sendo sua estimativa de grande interesse para o melhorista, pois possibilita estimar o ganho efetivo no processo de seleção (HANSON, 1963). As estimativas de herdabilidade no sentido restrito para o CEXT revelaram amplitude de 38,38 a 92,31%, sendo que as famílias oriundas dos cruzamentos que envolveram a L_R 04-2 e a L_R 03-2 apresentaram na média coeficiente de no mínimo 71,26%. Os menores coeficientes de herdabilidade foram observados para as famílias oriundas da fonte de resistência L_R 23-1 (Tabelas 8 e 9). Similarmente para o CINT, os coeficientes de herdabilidade no sentido restrito para todas as famílias variaram de 33,63 a 95,61%. De maneira geral, evidencia-se que nas famílias em que a L_R 23-1 participou como fonte de resistência, as estimativas da $\hat{h}_r^2$ foram menores quando comparadas as demais famílias (Tabelas 8 e 9).

Para o número de internódios descoloridos, as análises revelaram coeficientes de herdabilidade (restrito) de menor magnitude, quando comparados com aqueles estimados para as variáveis CEXT e CINT. As menores estimativas foram observadas para as famílias oriundas da fonte de resistência L_R 23-1, com herdabilidade média de 36,74% (Tabelas 8 e 9). A predição do ganho com a seleção antes da sua realização serve de subsídio para a definição da melhor estratégia de seleção, uma vez que o valor estimado da herdabilidade no sentido restrito irá nortear a magnitude do progresso genético com a seleção artificial (FEHR, 1987; RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993).

Tabela 8. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}^2a$), sentido restrito ($\hat{h}^2r$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) e número de genes de resistência à antracnose do colmo para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) para cada família do primeiro experimento. Ponta Grossa, PR.

Estimativas	Comprimento Externo de Lesão (CEXT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
$\hat{h}^2a$ (%)	97,32	96,32	98,24	88,92	96,29	92,08	99,41	91,9	77,96
$\hat{h}^2r$ (%)	89,06	53,83	92,31	88,26	57,63	82,92	87,34	57,16	40,30
$\hat{H}$ (cm)	- 53,85	- 23,85	- 69,15	- 60,00	- 37,35	- 29,75	- 66,50	- 39,10	- 52,1
$\hat{H}$ (%)	- 78,9	- 56,18	- 90,6	- 80,9	- 81,46	- 52,05	- 93,53	- 88,86	- 79,66
Nº genes	3,53	4,88	3,32	3,84	4,51	2,97	2,37	3,24	4,31
Estimativas	Comprimento Interno de Lesão (CINT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
$\hat{h}^2a$ (%)	94,46	84,04	98,41	88,92	92,63	85,78	98,76	85,67	86,55
$\hat{h}^2r$ (%)	90,59	54,41	87,95	52,42	53,56	62,91	44,99	70,75	62,91
$\hat{H}$ (cm)	- 71,25	- 24,70	- 46,6	- 53,4	- 25,3	- 34,5	- 71,75	- 55,85	- 69,00
$\hat{H}$ (%)	- 82,6	- 52,66	- 58,91	- 69,99	- 51,11	- 51,8	- 86,92	- 87,40	- 83,23
Nº genes	3,52	6,43	4,66	6,47	5,60	3,91	8,28	2,42	2,96
Estimativas	Número de Internódios Descoloridos (INT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
$\hat{h}^2a$ (%)	90,55	74,57	90,99	73,45	93,31	81,39	96,91	74,55	65,46
$\hat{h}^2r$ (%)	84,45	59,82	75,63	39,59	45,06	47,82	21,04	37,55	40,52
$\hat{H}$	- 1,95	- 1,10	- 1,55	- 1,8	- 1,50	- 1,15	- 2,00	- 1,7	- 1,9
$\hat{H}$ (%)	- 58,21	- 34,37	- 43,66	- 48,65	- 46,87	- 33,3	- 58,82	- 54,84	- 54,28
Nº genes	0,99	1,68	1,21	2,94	2,45	1,80	3,64	1,92	1,99

Tabela 9. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}^2a$), sentido restrito ($\hat{h}^2r$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) e número de genes de resistência à antracnose do colmo para as variáveis comprimento externo (CEXT), comprimento interno de lesão (CINT) e número de internódios descoloridos (INT) para cada família do segundo experimento. Ponta Grossa, PR.

Estimativas	Comprimento Externo de Lesão (CEXT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
$\hat{h}^2a$ (%)	99,18	98,57	97,12	97,03	97,36	98,06	94,11	96,72	98,56
$\hat{h}^2r$ (%)	91,92	82,08	65,19	77,64	61,40	59,68	66,76	41,77	38,38
$\hat{H}$ (cm)	- 63,20	- 70,35	- 59,80	- 63,45	- 55,00	- 42,80	- 53,65	- 40,15	- 53,15
$\hat{H}$ (%)	- 84,60	- 93,61	- 94,02	- 89,3	- 84,61	- 83,76	- 65,31	- 67,19	- 81,71
Nº genes	2,21	2,35	3,35	2,55	2,99	3,37	2,33	3,58	3,02
Estimativas	Comprimento Interno de Lesão (CINT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
$\hat{h}^2a$ (%)	98,59	99,03	98,41	94,90	90,08	92,21	93,71	96,92	97,22
$\hat{h}^2r$ (%)	71,51	88,98	95,61	59,09	50,49	55,01	41,64	34,33	33,63
$\hat{H}$ (cm)	- 68,55	- 57,40	- 47,70	- 69,85	- 43,30	- 54,45	- 59,60	- 56,90	- 56,00
$\hat{H}$ (%)	- 86,83	- 84,41	- 85,79	- 85,97	- 63,96	- 82,81	- 74,69	- 81,17	- 74,66
Nº genes	3,18	2,34	2,39	4,49	3,64	4,02	3,74	4,36	3,47
Estimativas	Número de Internódios Descoloridos (INT)								
	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 04-2 x L _S 99-4	L _R 03-2 x L _S 71-1	L _R 03-2 x L _S 95-1	L _R 03-2 x L _S 99-4	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 99-4
$\hat{h}^2a$ (%)	98,24	93,06	95,03	87,35	88,87	80,67	89,75	94,57	93,76
$\hat{h}^2r$ (%)	39,63	69,80	54,24	70,20	50,90	57,71	37,48	53,24	30,64
$\hat{H}$	- 2,20	- 2,40	- 2,20	- 2,30	- 2,15	- 2,25	- 2,65	- 2,30	- 2,10
$\hat{H}$ (%)	- 62,86	- 66,67	- 62,86	- 63,89	- 60,56	- 65,22	- 63,85	- 62,16	- 56,76
Nº genes	2,41	1,47	1,64	1,32	1,58	1,49	2,32	1,22	2,10

Os elevados valores dos coeficientes de herdabilidade (sentido amplo e restrito) associados a maior contribuição da variância genética devida aos efeitos aditivos para a herança da resistência, indicam facilidade no processo de seleção artificial pelos programas de melhoramento que visam à resistência genética para esse patossistema.

A heterose é utilizada para caracterizar a superioridade média da geração F_1 em relação à média dos parentais, e é observada quando o caráter avaliado no híbrido é maior (positiva) ou menor (negativa) do que a média dos genitores (SILVA, 2002). As estimativas de heterose apresentaram valores negativos e de grande magnitude (Tabelas 8 e 9). Independentemente da variável utilizada para quantificar a reação das famílias/gerações à antracnose do colmo, sempre a geração F_1 demonstrou decréscimo significativo nas lesões do patógeno quando comparado com os genitores suscetíveis.

A heterose percentual estimada para as nove famílias da variável CEXT, revelou coeficientes elevados e negativos com variação de - 52,05 a - 94,02% entre os experimentos. Estas amplitudes percentuais dos coeficientes equivalem a reduções de 29,7 a 59,8 cm no comprimento das lesões dos híbridos, embora tenha sido demonstrada redução superior a 70 cm no comprimento das lesões na geração F_1 do cruzamento L_R 04-2 x L_S 95-1 (Tabela 9). Em relação às fontes de resistência, a linhagem L_R 04-2 destacou-se nos cruzamentos, pois possibilitou decréscimo médio de 56,7 cm no comprimento das lesões das gerações filiais. As demais linhagens resistentes reduziram as lesões em 45,7 e 50,88 cm na L_R 03-2 e L_R 23-1, respectivamente (Tabelas 8 e 9).

As estimativas de heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) da variável CINT indicaram coeficientes variando de - 51,1 a - 87,4%, os quais foram bastante similares aos encontrados para o CEXT. De maneira geral, todas as linhagens resistentes (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1) possibilitaram reduções bastante contundentes nas gerações filiais, com decréscimos de 46,8 a 61,5 cm no comprimento interno das lesões (Tabelas 8 e 9).

Para o número de internódios descoloridos (INT) as estimativas da heterose percentual indicaram índices menores com amplitude de apenas - 33,3 a - 66,7% nos experimentos (Tabelas 8 e 9). Este comportamento era previsível, pois a avaliação das famílias/gerações através do INT foi baseada numa escala de notas, o que uniformizou de certa forma, a quantificação da doença das gerações parentais e filiais entre as famílias. De maneira geral, as três fontes de resistência evidenciaram a mesma redução no número de internódios descoloridos das respectivas gerações F_1 's em relação às linhagens suscetíveis, com amplitude de - 1,9 a - 2,1 internódios descoloridos nos dois experimentos.

A estimativa do número de genes ou blocos gênicos tem como objetivo auxiliar o melhorista sobre o melhor método de seleção a ser utilizado, bem como fornecer uma indicação do grau de dificuldade de se atingir uma meta desejada, porém ela é considerada apenas um indicativo, pois é baseada em uma série de pressuposições genéticas que normalmente não são atendidas (CRUZ; REGAZZI, 1997; LOBO; GIORDANO; LOPES, 2005). Os resultados encontrados neste trabalho, indicaram que o número estimado de genes envolvidos no controle genético da resistência de milho à antracnose do colmo, independentemente da forma de avaliação e da fonte de resistência, corroboram com uma hipótese de controle oligogênico da resistência de milho à *C. graminicola* nas nove famílias analisadas.

Para o comprimento externo de lesão, as estimativas relacionadas ao número de genes revelaram amplitude de 2,21 a 4,88 nos experimentos. É importante destacar que todas as famílias apresentaram em média estimativas bem semelhantes. Quando a L_R 04-2 foi utilizada como fonte de resistência nos cruzamentos, o número de genes estimado foi de 3,27; 3,37 para a L_R 03-2 e 3,14 genes para a linhagem L_R 23-1 (Tabelas 8 e 9). Para o comprimento interno de lesão (CINT), o número estimado de genes foi um pouco mais elevado, variando de 2,34 até 8,28. Na média dos experimentos, os valores foram próximos aos estimados para a

variável CEXT, com 3,75 genes para as famílias que possuíam a L_R 04-2, 4,68 para a L_R 03-2 e 4,2 genes para as famílias que continham a L_R 23-1 (Tabelas 8 e 9). A similaridade observada das estimativas para as variáveis CEXT e CINT pode ser considerada o reflexo da forma de avaliação da doença, pois ambas foram realizadas de forma direta, ou seja, pela avaliação do comprimento das lesões.

Para o número de internódios descoloridos (INT), as estimativas possivelmente subestimaram o número de genes que controlam a resistência à antracnose do colmo quando comparado com as variáveis CEXT e CINT (Tabelas 8 e 9). O número mínimo estimado foi de 0,99 para a família L_R 04-2 x L_S 71-1 a no máximo 3,64 genes para o cruzamento L_R 23-1 x L_S 71-1. Quando a linhagem L_R 23-1 estava presente na constituição genética das famílias, o número de genes foi maior, ficando em média com 2,2 genes, ao passo que nas famílias que continham como fonte de resistência a L_R 03-2 e L_R 04-2, as estimativas revelaram 1,93 e 1,57 genes de resistência, respectivamente (Tabelas 8 e 9). Possivelmente, o menor número de genes estimados para a variável INT foi em função da baixa amplitude revelada entre as linhagens parentais (resistentes e suscetíveis), uma vez que a utilização da escala limitou a quantificação da doença nas linhagens suscetíveis em no máximo seis internódios descoloridos. De fato, para o INT o número médio de genes estimado foi de apenas 1,9 e de 3,0 e 4,2 quando utilizou-se as variáveis CEXT e CINT, respectivamente (Tabelas 8 e 9).

A partir dos resultados alcançados nos experimentos, demonstrou-se que as três metodologias de quantificação da antracnose do colmo foram eficientes em discriminar indivíduos resistentes/suscetíveis nas nove famílias das respectivas gerações de segregação. Os elevados coeficientes de correlação entre as variáveis analisadas, sugerem que a avaliação da doença através do comprimento externo de lesão poderia facilitar o trabalho nos programas de melhoramento pela redução das atividades à campo, bem como no número de avaliadores necessários para caracterizar fenotipicamente as populações segregantes. Independentemente

da forma de avaliação (CEXT, CINT ou INT), as análises revelaram grande contraste fenotípico entre as linhagens endogâmicas. A magnitude deste contraste é prioritária para qualquer trabalho que visa estudar o controle genético desta interação patógeno x hospedeiro.

Os parâmetros genéticos estimados nos dois experimentos revelaram que o controle genético da resistência de milho à *C. graminicola* é oligogênico, com média geral de 3,12 genes, independente da forma de avaliação da doença e da fonte de resistência utilizada. O predomínio da ação gênica aditiva, explicando em média 81,92% da variação genética entre as médias das gerações, reforça a importância desta ação gênica na determinação do caráter neste conjunto de famílias. A variância aditiva é um dos fatores determinantes da covariância entre parentes, e por esta razão, sua existência/magnitude reforça o grau de relacionamento da unidade de seleção e a unidade a ser melhorada (CRUZ; REGAZZI, 1997). A prevalência da ação gênica aditiva, pequeno número de genes controlando a resistência, associada aos elevados coeficientes de herdabilidade no sentido amplo e restrito, indica uma condição muito favorável aos programas de melhoramento, incrementando facilmente o número de indivíduos selecionados com a maior frequência de alelos favoráveis para a resistência. Neste contexto, a utilização de metodologias simples de seleção pelos programas de melhoramento da cultura, como a seleção massal e a seleção recorrente fenotípica, facilitariam o desenvolvimento de populações melhoradas de milho com maior resistência à antracnose do colmo.

5. CONCLUSÕES

Os resultados evidenciaram existência de grande variabilidade genética entre as linhagens endogâmicas para resistência/suscetibilidade à *C. graminicola*.

As formas de avaliação da antracnose do colmo (comprimento externo e interno de lesão, e número de internódios descoloridos), foram igualmente eficientes em discriminar indivíduos resistentes dos suscetíveis em todas as famílias/gerações.

A ação gênica aditiva foi preponderante no controle genético da resistência de milho à *C. graminicola* em todas as famílias.

Os elevados coeficientes de herdabilidade (sentido amplo e restrito) confirmaram a grande contribuição da variância genética para resistência, o que assegura o sucesso na predição de ganhos genéticos com a seleção artificial neste patossistema.

As três fontes de resistência (L_R 04-2, L_R 03-2 e L_R 23-1) foram muito eficientes em transmitir genes de resistência a seus descendentes, pois possibilitaram decréscimos acentuados no comprimento das lesões.

As estimativas do número de genes demonstraram que o controle genético da resistência de milho à antracnose do colmo é oligogênico, indicando que o progresso esperado com a seleção para esse caráter deverá ser rápido e efetivo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V.E.; BERGSTROM, G.C. A major gene for resistance to anthracnose leaf blight in maize. **Plant Breeding**, v. 98, p. 194-199, 1987a.
- BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V.E.; BERGSTROM, G.C. Inheritance of resistance to anthracnose stalk rot and leaf blight in a maize inbred derived from a temperate by tropical germplasm combination. **Maydica**, v. 32, p. 221-237, 1987b.
- BALMER, E.; PEREIRA, O.A.P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. (Eds.) **Melhoramento e produção do milho**. 2 ed. Campinas, Fundação Cargill, p. 595-634, 1987.
- BARBOSA, C.A. **Manual da cultura do milho**, Viçosa: AgroJuris, 574p. 2010.
- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. Effect of the *Colletotrichum graminicola* conidial matrix on the development of anthracnose seedling blight in maize. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 3, p. 447-453, 1983.
- BERGSTROM, G.C.; NICHOLSON, R.L. The biology of corn anthracnose. **Plant Disease**, v. 83, p. 596-608, 1999.
- BLUM, L.E.B. et al. Efeito do nitrogênio e de híbridos de milho na severidade da ferrugem comum (*Puccinia sorghi*) e na incidência de podridão do colmo (*Giberella zea* ou *Phytophthora sp.*). In: REUNIÃO TÉCNICA CATARINENSE DE MILHO E FEIJÃO, 2., 1999, Lages - SC. **Anais...** Lages: UDESC/EPAGRI. p.78-82, 1999.
- BLUM, L.E.B. et al. Ocorrência de podridões no colmo do milho: influência da desfolha, população de plantas e híbridos. In: REUNIÃO TÉCNICA CATARINENSE DE MILHO E FEIJÃO, 3., 2001, Chapecó - SC. **Anais...** Chapecó: EPAGRI, p. 104-108, 2001.
- BLUM, L.E.B. et al. Desfolha, população de plantas e precocidade do milho afetam a incidência e a severidade de podridões do colmo. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 33, n. 5, p. 805-811, 2003.
- BRASIL, E.M.; CARVALHO, Y. Comportamento de híbridos de milho em relação à *Phaeosphaeria maydis* em diferentes épocas de plantio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1977-1981, 1998.
- BUTZEN, D.; DOLEZAL, B. Managing stalk rots in corn. **Crop Insights**, Pioneer, v. 10, n. 19, p. 1-4, 2010.
- BYRNES, K.J.; CARROL, R.B. Fungi causing stalk rot of conventional-tillage and no-tillage corn in Delaware. **Plant Disease**, v. 70, p. 238-239, 1986.
- CALLAWAY, M.B.; SMITH, M.E.; COFFMAN, W.R. Diallel analysis of resistance to anthracnose stalk rot in maize inbreds. **Crop Science**, v. 30, p. 335-337, 1990.
- CALLAWAY, M.B.; SMITH, M.E.; COFFMAN, W.R. Effect of anthracnose stalk rot on grain yield and related traits of maize adapted to the Northeastern United States. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 72, p. 1031-1036, 1992.

CARSON, M.L. Anthracnose leaf blight. **Compendium of Corn Diseases**, 3ed. American Phytopathological Society, p. 21-22, 1999.

CARSON, M.L.; HOOKER, A.L. Inheritance of resistance to stalk rot of corn caused by *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 71, p. 1190-1196, 1981.

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S.; PINTO, N.F.J.A. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 14p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 83).

CHAMBERS, K.R. Stalk rot of maize: host-pathogen interaction. **Journal of Phytopathology**, v. 118, p. 103-108, 1987.

CHIANG, H.C.; WILCOXSON, R.D. Interactions between the European corn borer and stalk rot in corn. **Journal of Economic Entomology**, v. 54, p. 850-852, 1961.

CHRISTENSEN, J.J.; SCHNEIDER, C.L. European corn borer (*Pyrausta nubilalis* Hbn.) in relation to shank, stalk, and ear rots of corn. **Phytopathology**, v. 40, p. 284-291, 1950.

CHRISTENSEN, J.J.; WILCOXSON, R.D. Stalk rot of corn. **American Phytopathological Society**, St. Paul, M.N. 59p., 1966.

CIB, Conselho de Informações sobre Biotecnologia. **Guia do Milho: Tecnologia do Campo à Mesa**, p.1-16, 2006. Disponível em: <<http://www.cib.org.br>> Acesso em 03 de julho de 2012.

COELHO, R.M.S. et al. Controle genético da antracnose foliar em milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 640-643, 2001.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira: grãos, nono levantamento**. Publicação Mensal, 34p. Junho, 2012.

COSTA, R.V. et al. **Podridões fúngicas de colmo na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 7p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 100).

COSTA, R.V. et al. Incidência de *Colletotrichum graminicola* em colmos de genótipos de milho. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n.2, p. 122-128, 2010.

COTA, L.V. et al. **Efeito da podridão de colmo, causada por *Colletotrichum graminicola*, na produção da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 5p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 120).

CRUZ, C.D. PROGRAMA GENES: Aplicativo Computacional em Genética e Estatística Experimental. Versão 7.0. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2009.

CRUZ, J.C. et al. **Cultivo do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção, 1. ISSN 1679-012X. Versão Eletrônica, 7ª edição. 2011. Disponível em: <<http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>> Acesso em 02 de Julho de 2012.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 360p. 1997.

DALE, J.L. Corn anthracnose. **Plant Disease**, v. 47, p. 245-249, 1963.

DEL RIO, L.; ZÚNGIA, T. Efecto de algunas practicas culturales u fechas de recoleccion em la incidência de *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton em maiz sembrada em dos sistemas de lanbranza. **Ceiba**, v. 32, p. 141-149, 1991.

DENTI, E.A.; REIS, E.M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência das podridões da base do colmo e no rendimento de grãos do milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 635-639, 2001.

DENTI, E.A.; REIS, E.M. Levantamento de fungos associados às podridões do colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do planalto médio gaúcho e dos Campos Gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 585-590, 2003.

DIXON, R.A.; PAIVA, N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A.L. **Produção de milho**. 2 ed. Guaíba; Agropecuária. 360p. 2004.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 360p. 2000.

FEHR, W.R. **Principles of cultivar development**. New York: Macmillan Publishing Company, 536p. 1987.

FERREIRA, D.F. **SISVAR**: programa estatístico. Versão 5.3. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 1999.

FERREIRA, A.S.; CASELA, C.R. **Antracnose do milho (*Colletotrichum graminicola*)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 6p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 13).

FREY, T.J. et al. Fitness evaluation of *Rcg1*, a locus that confers resistance to *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. Wils using near-isogenic maize hybrids. **Crop Science**, v. 51, p. 1551-1563, 2011.

GARDINGO, D.A. **Potencial de resistência de variedades crioulas de milho à infecção artificial por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils**. Ponta Grossa, 2008. 36p. UEPG, Universidade Estadual de Ponta Grossa.

GATCH, E.W.; HELLMICH, R.L.; MUNKVOLD, G.P. A comparison of maize stalk rot occurence in Bt and non – Bt hybrids. **Plant Disease**, v. 86, p. 1149-1155, 2002.

GATCH, E.W.; MUNKVOLD, G.P. Fungal species composition in maize stalks in relation to European corn borer injury and transgenic insect protection. **Plant Disease**, v. 86, p. 1156-1162, 2002.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Livraria Nobel, 430p. 1990.

HAMMERSCHMIDT, R.; NICHOLSON, R.L. Resistance of maize to anthracnose: Changes in host phenols and pigments. **Phytopathology**, v. 67, p. 251-258, 1977.

HANSON, W.D. Heritability. In: HANSON, W.D.; ROBINSON, H.F. **Statistical genetics and plant breeding**. Washington, p.125-159, 1963.

HOLLEY, R.N. Stalk quality and stalk rot resistance of tropical hybrid maize derivatives. **Plant Disease**, v. 72, p. 321-324, 1988.

HOLTON, T.A.; CORNISH, E.C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, p. 1071-1083, 1995.

HOOKE, A.L. Corn anthracnose leaf blight and stalk rot. Proceedings of the thirty-first annual corn and sorghum research conference. **American Seed Trade Association**, p. 167-183, 1976.

HOOKE, A.L.; WHITE, D.G. Prevalence of corn stalk rot fungi in Illinois. **Plant Disease**, v. 60, p. 1032-1034, 1976.

HUMY, C. Reactions of *Zea mays* to *Colletotrichum graminicola*. University of Illinois, M.S. Thesis, Urbana-Champaign. 71p. 1976.

IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná. Cartas climáticas do Paraná. Disponível em: <<http://www.iapar.br>>. Acesso em 22 de Outubro de 2012.

IBGE, Índice Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>>. Acesso em: 03 de Julho de 2012.

JARVIS, J.L. et al. The relationship between second generation European corn borers and stalk rot fungi in maize hybrids. **Maydica**, v. 29, p. 247-263, 1984.

JENNS, A.E.; LEONARD, K.J. Effects of illuminance on the resistance of inbred lines of corn to isolates of *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 75, p. 281-286, 1985.

JIM, S. Common stalk rot disease of corn. **Plant Disease**, v. 6, p. 1-8, 1999.

JIRAK-PETERSON, J. C.; ESKER, P.D. Tillage, crop rotation, and hybrid effects on residue and corn anthracnose occurrence in Wisconsin. **Plant Disease**, v. 95, p. 601-610, 2011.

JUNG, M. et al. Generation means analysis and quantitative trait locus mapping of anthracnose stalk rot genes in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 89, p. 413-418, 1994.

KELLER, N.P.; BERGSTROM, G.C. Developmental predisposition of maize to anthracnose stalk rot. **Plant Disease**, v. 72, p. 977-980, 1988.

KOEHLER, B. **Corn stalk rots in Illinois**. III Agricultural Experiment Station, v. 658, 1960.

LE BEAU, F.J.; STOKES, I.E.; COLEMAN, O.H. **Anthracnose and red rot of sorghum**. U.S. Dept. Agric. Bull, p. 1035, 1951.

LEONARD, K.J.; THOMPSON, D.L. Effects of temperature and host maturity on lesion development of *Colletotrichum graminicola* on corn. **Phytopathology**, v. 66, p. 635-639, 1976.

LIM, S.M.; WHITE, D.G. Estimates of heterosis and combining ability for resistance of maize to *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 68, p. 1336-1342, 1978.

LIPPS, P.E. Influence of inoculum from buried and surface corn residues on the incidence of corn anthracnose. **Phytopathology**, v. 75, p. 1212-1216, 1985.

LIPPS, P.E. Spread of corn anthracnose from surface residues in continuous corn and corn-soybean rotation plots. **Phytopathology**, v. 78, p. 756-761, 1988.

LOBO, V.L.S.; GIORDANO, L.B.; LOPES, C.A. Herança da resistência à mancha-bacteriana em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 343-349, 2005.

MACHADO, C.T.T.; PATERNIANI, M.L.S. Origem, domesticação e difusão do milho. In: SOARES, A.C. et al. **Milho crioulo: conservação e uso da biodiversidade**. Rio de Janeiro: AS – PTA. 185p. 1999.

MATHER, K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics**. Ithaca: Cornell University Press, 382p. 1971.

MATIELLO, R.R. **Patossistema milho x *Colletotrichum graminicola*: estudo de herança, mapeamento de genes de resistência e estimativas de danos na produção**. Piracicaba, 2004. 116p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MATIELLO, R.R. et al. Inheritance of resistance to anthracnose stalk rot (*Colletotrichum graminicola*) in tropical maize inbred lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 179-184, 2012.

MATIELLO, R.R. et al. Comparison of yield damages of tropical maize hybrids caused by anthracnose stalk rot. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 2, p. 128-132, 2013.

MICHAELSON, M.E. Factor affecting development of stalk rot of corn caused by *Diplodia zeae* and *Gibberella zeae*. **Phytopathology**, v. 47, p. 499-503, 1957.

MORELLO, R.M.S.C. **Resistência em milho (*Zea mays* L.) a *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils.** Piracicaba, 2000. 94p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MUIMBA-KANKOLONGO; BERGSTROM, G.C. Reduced anthracnose stalk rot in resistant maize associated with restricted development of *Colletotrichum graminicola* in pith tissue. **Journal of Phytopathology**, v. 59, p. 329-341, 2011.

NAYLOR, V.D.; LEONARD, K.J. Survival of *Colletotrichum graminicola* in infected corn stalks in North Carolina. **Plant Disease**, v. 61, p. 383-383, 1977.

NAZARENO, N.R.X. Avaliação de perdas por podridão do colmo em milho (*Zea mays*) no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 14, p. 82-84, 1989.

NICHOLSON, R.L.; MORAES, W.B.C. Survival of *Colletotrichum graminicola*: importance of the spore matrix. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 3, p. 255-261, 1980.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p. 369-389, 1992.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M.S. Melhoramento de milho. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV. 817p. 1999.

PATERNIANI, M.E.A.G.Z. et al. Diallel crosses among maize lines with emphasis on resistance to foliar diseases. **Genetic and Molecular Biology**, v. 23, p. 381-385, 2000.

PEREIRA, O.A.P.; BALMER, E.; MIRANDA FILHO, J.B. Inheritance of resistance to stalk rot, caused by *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils., in maize (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Genética**, v. 12, p. 53-65, 1989.

PEREIRA, O.A.P.; PEREIRA, W.S.P. Estudo de *Diplodia zeae* (Shw.) Lev. e *Fusarium moniliforme* Sheld. em colmo de milho. **Summa Phytopathologica**, v. 2, p. 165-171, 1976.

PERKINS, J.M.; HOOKER, A.L. The effects of anthracnose stalk rot on corn yields in Illinois. **Plant Disease**, v. 63, p. 26-30, 1979.

PINTO, N.F.S.A.; SANTOS, M.A.; WRUCK, D.S.M. Principais doenças da cultura do milho. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte – MG, v. 27, n. 233, p. 82-94, 2006.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.J.O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: Editora da UFG, 271p. 1993.

REIS, E.M.; CASA, R.T. **Manual de identificação e controle de doenças do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 80p. 1996.

REZENDE, V.F. Análise genética da resistência à antracnose foliar em milho. Piracicaba, 2004. 103p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agrocultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

REZENDE, V.F. et al. Mixed inheritance model for resistance to anthracnose leaf blight in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, p. 115-122, 2004.

ROSSMAN, H. **Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos de uma população de soja avaliada em quatro anos**. Piracicaba, 2001. 91p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SANGOI, L. et al. Incidência e severidade de doenças de quatro híbridos de milho cultivado com diferentes densidades de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 17-21, 2000.

SAS Institute (2000) **SAS /STAT user's guide: statistics**. Version 8.1., Cary, V.2.

SCHALL, R.A.; NICHOLSON, R.L.; WARREN, H.L. Influence of light on maize anthracnose in the greenhouse. **Phytopathology**, v. 70, p. 1023-1026, 1995.

SHURTLEEF, M.C. **A compendium of corn disease**. St. Paul: American Phytopathological Society, 64p. 1980.

SHURTLEEF, M.C. **Compendium of Corn Diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 105p. 1992.

SILVA, L.L. **Heterose e capacidade de combinação em cruzamentos dialélicos parciais de pimentão**. Piracicaba, 2002. 100p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SILVA, V.A. **Resposta de cultivares de milho a *Colletotrichum graminicola***. Jaboticabal, 2006. 59p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

SILVEIRA, A.P.; FIGUEIREDO, M.F.; CRUZ, B.P. Ocorrência de antracnose do milho no Estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo, v. 31, p. 192-194, 1965.

SKOROPAD, W.P. Effect of temperature on the ability of *Colletotrichum graminicola* to form apressoria and penetrate barley leave. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 47, p. 431-434, 1967.

SMITH, D.R. Yield reduction in dent corn caused by *Colletotrichum graminicola*. **Plant Disease**, v. 60, p. 967-970, 1976.

SNYMAN, A.J.; WEHNER, F.C. Effect of environmental factors on inoculum production by *Stenocarpella maydis*. **Phytopathology**, v. 20, p. 106, 1988. (Abstract).

SOBEK, E.A.; MUNKVOLD, G.P. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) as vectors of *Fusarium moniliforme*, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels. **Journal of Economic Entomology**, v. 92, p. 503-509, 1999.

SUKNO, S.A. et al. Root infection and systemic colonization of maize by *Colletotrichum graminicola*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 823-832, 2008.

TEIXEIRA, F.F. et al. Diversidade no germoplasma de milho coletado na região nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 59-67, 2002.

TOMAN, J. Jr.; WHITE, D.G. Inheritance of resistance to anthracnose stalk rot of corn. **Phytopathology**, v. 83, p. 981-986, 1993.

TOMAZELA, A.L. et al. Doses de nitrogênio e fontes de Cu e Mn suplementar sobre a severidade da ferrugem e atributos morfológicos do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 2, p. 192-201, 2006.

TORRECIJA, M. **Resistência de linhagens endogâmicas de milho tropical à inoculação por *Colletotrichum graminicola***. Ponta Grossa, 2012. 35p. Monografia – UEPG, Universidade Estadual de Ponta Grossa.

USDA, United States Department of Agriculture. **World Corn Production, Consumption, and Stocks**. 2012. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov>>. Acesso em 29 de outubro de 2012.

VAILLANCOURT, L.J.; HANAU, R.N. Genetic and morphological comparisons of *Glomerella* (*Colletotrichum*) isolates from maize and from sorghum. **Experimental Mycology**, Duluth, v. 16, n. 3, p. 219 – 229, 1992.

VENARD, C.; VAILLANCOURT, L.J. Colonization of fiber cells by *Colletotrichum graminicola* in wounded maize stalks. **Phytopathology**, v. 97, p. 438-447, 2006.

VENARD, C.; VAILLANCOURT, L.J. Penetration and colonization of unwounded maize tissues by the maize anthracnose pathogen *Colletotrichum graminicola* and the related nonpathogen *C. sublineolum*. **Mycologia**, v. 99, p. 368-377, 2007.

WARREN, H.L. Survival of *Colletotrichum graminicola* in corn kernels. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 2, p. 160-162, 1977.

WARREN, H.L. et al. Observations of *Colletotrichum graminicola* on sweet corn in Indiana. **Plant Disease**, v. 57, p. 143-144, 1973.

WELDEKIDAN, T. HAWK, J.A. Inheritance of anthracnose stalk rot resistance in maize. **Maidyca**, v. 38, p. 189-192, 1993.

WHITE, D.G.; HUMY, C. Methods for inoculation of corns stalks with *Colletotrichum graminicola* on corn. **Plant Disease**, v. 60, p. 898-899, 1976.

WHITE, D.G.; YANNEY, J.; NATTI, T.A. **Anthracnose stalk rot**. Proceedings, Thirty-fourth annual corn and sorghum research conference. American Seed Trade Association, 115p. 1979.

WILLIAMS, L.E.; WILLIS, G.M. Disease of corn caused by *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 53, p. 364-365, 1963.

YANG et al. Characterization and mapping of *Rpi1*, a gene that confers dominant resistance to stalk rot in maize. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 274, p. 229-234, 2005.

YANG, D.E.; ZHANG, C.L.; WANG, Y.G. Review of maize stalk rot in China. **Journal of Maize Science**, v. 1, p. 4-6, 2002.

ZUBER et al. Effect of anthracnose leaf blight on stalk rind strength and yield in F₁ single crosses in maize. **Plant Disease**, v. 65, p. 719-722, 1981.

