

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

HELLEN CHRISTINE PROCHNO

HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR

PONTA GROSSA
2013

HELLEN CHRISTINE PROCHNO

HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR

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

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello

Ponta Grossa
2013

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

P963 Prochno, Hellen Christine
Herança da resistência de milho à
antracnose foliar/ Hellen Christine
Prochno. Ponta Grossa, 2013.
88f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia -
Área de Concentração: Agricultura),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues
Matiello.

1.Colletotrichum graminicola.
2.Resistência genética. 3.Ação gênica.
4.Heterose. 5.Herdabilidade. 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

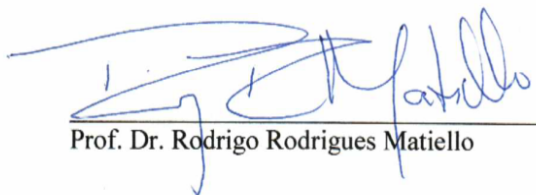
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: **“Herança da resistência de milho à antracnose foliar”**.

Nome: Hellen Christine Prochno

Orientador: Rodrigo Rodrigues Matiello

Aprovado pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello



Prof.ª Dra. Maria Teresa Gomes Lopes



Prof.ª Dra. Maristella Dalla Pria

Data da Realização: 18 de novembro de 2013.

Ao meu pai, minha mãe e meus irmãos.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo, porque é a luz, fortaleza e proteção que dá sentido a minha vida. Pela saúde, coragem, persistência e sabedoria a mim concedidas e por me carregar quando me faltaram forças.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao curso de Pós-Graduação em Agronomia e à Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello pela imensa dedicação, conselhos e conhecimentos compartilhados, os quais possibilitaram a conclusão desta dissertação.

Aos meus pais Eliseu e Dagna pela preocupação, suporte, incentivo e amor incondicional que me fornecem o apoio necessário para a realização de todos os meus sonhos. Amo vocês.

Aos meus irmãos Hanna e Higor pela compreensão e carinho. Por rirem com as minhas alegrias e chorarem com as minhas tristezas. O amor e companheirismo de vocês são essenciais para a minha vitória.

À minha avó, meus tios e primos por todos os conselhos, palavras de amor e de incentivo. A união e o amor entre vocês são o meu exemplo de vida.

À família do laboratório de Genética Molecular: Aghata Charnobay, Angélica Michalowski, Brenda Luiza, Caroline Coelho, Cristiane Romaneck, Débora Máximo, Daniele Tasior, Danilo Guimarães, Eduardo Oliveira, Francelly Ferreira, Guilherme de Jong, Rodrigo Hilbert, Thaís da Silva, Vanessa de Oliveira e William dos Anjos. Pela ajuda e amizade que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

À professora Maristella Dalla Pria por todos os conselhos e amizade, por estar sempre disponível à esclarecer minhas dúvidas desempenhando muitas vezes o papel de co-orientadora.

Aos meus amigos Renato Testa, Amanda Pietrobelli e Marina Oliveira. Amigos que tenho como irmãos e foram essenciais para a conclusão deste trabalho, com cada palavra de incentivo e de carinho.

Às minhas amigas, irmãs, companheiras, fontes de inspiração, de alegria, de fé e força de vontade: Andressa Gadens, Camila Andrade, Jéssica Chueri, Jéssica Granero, Karina Primor, Maria Margarida Drehmer, Mariana Lurezovoski, Renata Chini, Rubia Souza, Thayane Sviercosky e Tuany Kloster. A amizade de vocês é essencial na minha vida.

À todos os funcionários da Universidade Estadual de Ponta Grossa, principalmente à Zima Richter e Luciane Hennemberg, pela solicitude e indispensável ajuda durante a realização deste trabalho.

“O transtorno é passageiro, mas o benefício é duradouro.”
(Autor desconhecido)

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar a resistência/suscetibilidade de dezesseis linhagens endogâmicas de milho à antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wils.) e estimar os parâmetros genéticos associados à resistência, bem como estudar o modo de herança da resistência e a ação gênica envolvida nas gerações descendentes de cruzamentos entre linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays* L.). Primeiramente, dezesseis linhagens de milho foram avaliadas quanto a resistência/suscetibilidade à antracnose foliar em três experimentos instalados no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições. As inoculações das plantas foram realizadas quando as plantas estavam com seis à sete folhas completamente expandidas, em dois momentos, sendo a segunda realizada sete dias após a primeira inoculação. Para a quantificação da severidade da doença, foram realizadas seis avaliações com intervalo semanal, iniciadas após o aparecimento dos primeiros sintomas, pela utilização de uma escala de notas com amplitude de 1 a 6. Foram utilizados os dados obtidos na segunda, quarta e sexta avaliação e os dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para a realização das análises estatísticas e estimativas dos parâmetros genéticos. Para o estudo da herança envolvida na resistência de milho à antracnose foliar, estimou-se os parâmetros genéticos de seis famílias derivadas dos cruzamentos entre linhagens resistentes e suscetíveis à *C. 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. Foram utilizados os dados estimados na segunda, quarta e sexta avaliação para a realização das análises estatísticas e genéticas. Os resultados evidenciaram a existência de variabilidade genética para a resistência/suscetibilidade à antracnose foliar no conjunto de linhagens estudadas. As linhagens L 04-2, L 23-1, L 87-3, L 99-4 e L 118-4 destacaram-se pela manutenção do padrão de resistência, apresentando os menores valores de AACPD nos três experimentos, sendo consideradas importantes fontes de resistência a *C. graminicola*. As estimativas dos parâmetros genéticos indicaram baixa participação dos efeitos ambientais na expressão da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar e evidenciaram a possibilidade de ganhos genéticos com a seleção artificial. Os resultados indicaram predomínio dos efeitos genéticos aditivos na herança da resistência de milho à antracnose foliar nas seis famílias analisadas, explicando até 99,39% da variação fenotípica. Os elevados coeficientes de herdabilidade (sentido amplo e restrito) observados indicam 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 (L_R 04-2 e L_R 23-1) em transmitir os genes de resistência para as gerações filiais, resultando na menor severidade da doença. Os resultados demonstraram que a herança da resistência do milho à antracnose foliar é oligogênica. Predomínio de ação gênica aditiva, associada às altas estimativas de herdabilidade e controle genético oligogênico, permitem inferir que os ganhos genéticos com a seleção artificial lograrão êxito nos programas de melhoramento que buscam desenvolver populações de milho resistentes à antracnose foliar.

Palavras-chave: *Colletotrichum graminicola*. Resistência genética. Ação gênica. Heterose. Herdabilidade.

ABSTRACT

The objectives of this study were to measure the resistance/susceptibility of the sixteen maize inbred lines to anthracnose leaf blight (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wils.) and estimate the genetic parameters associated with resistance, as well as study the inheritance of resistance and the genic action involved in the generations descended from crosses between maize inbred lines (*Zea mays* L.). Firstly, sixteen maize lines were screened for resistance/susceptibility to anthracnose leaf blight in three trials conducted in a randomized block design, with four replications. The plants inoculations were performed when the plants were six to seven completely expanded leaves in two times, the second made seven days after the first inoculation. To quantify the disease severity, six evaluations were performed at weekly intervals, initiated after the first symptoms appear, by use a note scale with amplitude from 1 to 6. Were used the data obtained in the second, fourth and sixth evaluation and data of the area under the disease progress curve (AUDPC) to perform analyzes and estimates of genetic parameters. To study the inheritance of resistance in maize to anthracnose leaf blight, were estimated the genetic parameters of six families derived from crosses between resistant and susceptible lines to *C. graminicola*. Each family consisted of six generations (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2), which were evaluated for resistance in two trials implanted in a randomized block design in a split-plot, where in the plots were studied the families effects and in splits the generations effects, with three replications. Were used the data estimated in second, fourth and sixth evaluation for the performed the statistical and genetic analysis. The results showed the existence of genetic variability for resistance/susceptibility to anthracnose leaf blight in all inbred lines studied. The inbred lines L 04-2, L 23-1, L 87-3, L 99-4 e L 118-4 stood out for keep the resistance pattern, showing the lowest values of AUDPC in the three trials, were considered important source of resistance to *C. graminicola*. The estimates genetic parameters indicated low participation of environmental effects on the resistance/susceptibility expression to anthracnose leaf blight and showed the possibility of genetic gains with the artificial selection. The results indicated predominance of additive effects in the inheritance of maize resistance to anthracnose leaf blight in the six families analyzed, explaining up to 99,39% of the phenotypic variation. The high heritability coefficients (broad and narrow sense) observed indicated ease in the artificial selection process by breeding programs. The heterosis estimates were high and negatives in all families studied, revealing the ability of resistant inbred lines (L_R 04-2 e L_R 23-1) in transmitting the resistance genes for generations affiliated, resulting in lower disease severity. The results showed that the inheritance of maize resistance to anthracnose leaf blight is oligogenic. Predominance of additive genic action, associated with high heritability estimates and oligogenic genetic control, assuming that genetic gains with artificial selection will reach success in the breeding programs that search develop resistant maize populations to anthracnose leaf blight.

Keywords: *Colletotrichum graminicola*. Genetic resistance. Genic action. Heterosis. Heritability.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Visualização da intensidade do sintoma da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*). Representação das notas de escala (1 a 6) observadas à campo para a caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar. Ponta Grossa - PR, 2013..... 40
- Figura 2 – Distribuição de frequência (%) dos indivíduos da geração F_2 em cada classe de notas da sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) nas famílias: (A) L_R 04-2 x L_S 70-2, (B) L_R 04-2 x L_S 71-1 e (C) L_R 04-2 x L_S 95-1, nos experimentos de herança. 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, 2013..... 62
- Figura 3 – Distribuição de frequência (%) dos indivíduos da geração F_2 em cada classe de notas da sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) nas famílias: (A) L_R 23-1 x L_S 70-2, (B) L_R 23-1 x L_S 71-1 e (C) L_R 23-1 x L_S 95-1, nos experimentos de herança. 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, 2013..... 63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Escala para o tipo de reação da planta hospedeira , com a respectiva nota e descrição das lesões correspondentes causadas por <i>Colletotrichum graminicola</i>	31
Tabela 2	– Coeficientes de correlação entre as seis avaliações da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para os três experimentos de linhagens endogâmicas de milho (<i>Zea mays</i>). Ponta Grossa - PR, 2013.....	36
Tabela 3	– Resumo da análise de variância conjunta para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), dos três experimentos de linhagens endogâmicas de milho (<i>Zea mays</i>). Ponta Grossa - PR, 2013.....	38
Tabela 4	– Resumo da análise de variância das notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), do primeiro experimento de linhagens endogâmicas de milho (<i>Zea mays</i>). Ponta Grossa - PR, 2013.....	39
Tabela 5	– Resumo da análise de variância das notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), do segundo experimento de linhagens endogâmicas de milho. (<i>Zea mays</i>). Ponta Grossa - PR, 2013.....	39
Tabela 6	– Resumo da análise de variância das notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), do terceiro experimento de linhagens endogâmicas de milho. (<i>Zea mays</i>). Ponta Grossa - PR, 2013.....	39
Tabela 7	– Médias das notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o primeiro experimento de linhagens endogâmicas. Ponta Grossa - PR, 2013.....	41
Tabela 8	– Médias das notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o segundo experimento de linhagens endogâmicas. Ponta Grossa - PR, 2013.....	43

Tabela 9	– Médias das notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o terceiro experimento de linhagens endogâmicas. Ponta Grossa - PR, 2013.....	45
Tabela 10	– Estimativas dos parâmetros genéticos para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), dos três experimentos de linhagens endogâmicas de milho (<i>Zea mays</i>). Ponta Grossa - PR, 2013.....	48
Tabela 11	– Coeficientes de correlação entre as seis avaliações da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), das linhagens endogâmicas de milho (<i>Zea mays</i>) utilizadas nos cruzamentos, para os dois experimentos de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	52
Tabela 12	– Resumo da análise de variância para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>), no primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	53
Tabela 13	– Resumo da análise de variância para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>), no segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	53
Tabela 14	– Efeito do desdobramento das médias das gerações (L_R , L_S , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2) nas respectivas famílias, para as notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>), do primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	56
Tabela 15	– Efeito do desdobramento das médias das gerações (L_R , L_S , F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2) nas respectivas famílias, para as notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>), do segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	59
Tabela 16	– Porcentagem da variação para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) explicada pelos efeitos genéticos aditivos, dominantes e desvios do modelo para cada família do primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	66
Tabela 17	– Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_\%$) e número de genes de resistência à antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação para cada família do primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	67

Tabela 18	– Porcentagem da variação para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) explicada pelos efeitos genéticos aditivos, dominantes e desvios do modelo para cada família do segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	70
Tabela 19	– Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_\%$) e número de genes de resistência à antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação para cada família do segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.....	73
Tabela 20	– Estimativas médias do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_\%$) e número de genes de resistência para cada linhagem endogâmica independente do período de avaliação da antracnose foliar (<i>Colletotrichum graminicola</i>) nos dois experimentos. Ponta Grossa - PR, 2013.....	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1	PANORAMA ECONÔMICO DO MILHO.....	16
3.2	MELHORAMENTO GENÉTICO NA CULTURA DO MILHO.....	17
3.3	DOENÇAS NA CULTURA DO MILHO NO BRASIL.....	18
3.4	ANTRACNOSE FOLIAR EM MILHO.....	20
3.5	CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR.....	23
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1	MATERIAL VEGETAL.....	27
4.2	EXPERIMENTOS DE CAMPO.....	28
4.2.1	Caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar nas linhagens endogâmicas.....	28
4.2.2	Ensaio de herança da resistência de milho à antracnose foliar.....	28
4.3	MULTIPLICAÇÃO DO ISOLADO E OBTENÇÃO DO INÓCULO.....	29
4.4	INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	30
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS.....	31
4.5.1	Caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar nas linhagens endogâmicas.....	31
4.5.2	Ensaio de herança da resistência de milho à antracnose foliar.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR NAS LINHAGENS ENDOGÂMICAS.....	35
5.1.1	Estimativas dos parâmetros genéticos associados à resistência.....	47
5.2	HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR.....	50
5.2.1	Estimativas dos parâmetros genéticos associados à herança da resistência.....	64
6	CONCLUSÕES.....	78
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
	ANEXOS.....	87

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é cultivado mundialmente devido à grande importância econômica deste produto. Este fato é explicado pela ampla utilização deste cereal, que vai desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. Com produção total de aproximadamente 70 milhões de toneladas na safra agrícola de 2011/2012, o Brasil permanece como o terceiro maior produtor no ranking mundial dos países produtores de milho. Devido à grande importância e possibilidade de utilização em diferentes sistemas produtivos, o milho é a segunda cultura com maior volume de produção no Brasil, com área de 15 milhões de hectares e produtividade média de 4.600 kg ha⁻¹ (CONAB, 2012).

O crescimento constante da área cultivada e a ampliação das épocas de semeadura contribuíram para o aumento da produção da cultura no país (PINHO et al., 1999). Entretanto, a ausência de rotação de culturas tem favorecido doenças consideradas de importância secundária para o milho (BARBOSA, 2010). Normalmente, as doenças foliares causam declínio na produtividade de grãos, na quantidade de massa verde para a produção de silagem, na palatabilidade e no valor nutritivo dos grãos e da forragem (CASELA et al., 2003). Os danos devido ao ataque de patógenos à cultura são frequentes em todas as regiões produtoras do país, sendo estimadas reduções de até 80% na produtividade (PINTO; SANTOS; WRUCK, 2006).

A antracnose foliar, causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wils., tem destacado-se de forma crescente no panorama da agricultura nacional. Este fato deve-se à presença do patógeno nas lavouras das principais regiões produtoras do país (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006). Além da ampla distribuição geográfica, a antracnose limita a obtenção de alto potencial de rendimento na cultura, pois o patógeno pode infectar todas as partes da planta, confirmando o potencial destrutivo, tanto pela antracnose foliar quanto pela podridão do colmo em genótipos suscetíveis (FERREIRA; CASELA, 2001; MATIELLO et al., 2013; REZENDE et al., 2004).

A utilização de genótipos resistentes é a principal estratégia de manejo e a forma mais eficaz no controle da antracnose foliar em milho (COELHO et al., 2001; FERREIRA; CASELA, 2001; REZENDE et al., 2004). Portanto, é essencial para os programas de melhoramento a obtenção de genótipos superiores no germoplasma, com maior concentração de alelos favoráveis, visando à incorporação dos genes de resistência à antracnose foliar nos híbridos comerciais. O conhecimento sobre o controle genético envolvido na resistência de

milho à antracnose foliar é de fundamental importância no processo de seleção de genótipos resistentes. Neste sentido, o melhorista pode definir de forma mais precisa a estratégia de melhoramento a ser utilizada, visando à maximização dos ganhos genéticos com a seleção artificial. A maioria dos estudos relativos à herança da resistência de milho à antracnose foliar estimou a presença de um ou poucos genes controlando a resistência, com predominância dos efeitos genéticos aditivos sobre os dominantes (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987b; CARSON; HOOKER, 1981a; COÊLHO et al., 2001; LIM; WHITE, 1978; REZENDE et al., 2004; SILVA, 1983).

Entender os parâmetros genéticos associados ao modo de herança da resistência, bem como quantificar a ação gênica envolvida na resistência de milho à antracnose foliar, facilita a incorporação destes genes em híbridos com características agronômicas desejadas pelos programas de melhoramento. Desta maneira, a quantificação da magnitude da ação gênica envolvida na herança da resistência de milho à antracnose foliar através da análise de médias de gerações descendentes de cruzamentos entre linhagens contrastantes, serve como embasamento para o desenvolvimento de variedades e híbridos resistentes nos programas de melhoramento de milho.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi identificar fontes de genes de resistência genética à antracnose foliar num conjunto de linhagens endogâmicas de milho tropical, bem como entender o modo de herança e a magnitude da ação gênica envolvidos na resistência de milho à antracnose foliar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a existência de variabilidade genética num conjunto de linhagens endogâmicas de milho com relação à resistência/suscetibilidade à antracnose foliar.
- Estimar os parâmetros genéticos envolvidos na resistência à antracnose foliar no conjunto de linhagens endogâmicas.
- Estudar o tipo de herança e a ação gênica envolvidas na resistência de milho à antracnose foliar através da análise de médias de gerações descendentes de cruzamentos entre linhagens contrastantes de milho tropical.
- Estimar os parâmetros genéticos envolvidos na herança da resistência de milho à antracnose foliar;
- Identificar o período ideal para a avaliação da severidade da antracnose foliar na cultura do milho.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PANORAMA ECONÔMICO DO MILHO

A importância econômica da cultura do milho está principalmente na diversidade de utilização deste cereal (SEAB, 2011). No aspecto nutritivo, destina-se principalmente à alimentação humana e ao arração animal, além de ser uma importante fonte de energia, utilizada na produção de biocombustíveis e biomateriais (BNDES, 2011).

Cultivado em mais de 100 países destaca-se como o cereal mais produzido no mundo (CATÃO et al., 2007), com produção mundial de 877 milhões de toneladas (USDA, 2012). Entre os maiores produtores estão os Estados Unidos da América, com produção de aproximadamente 314 milhões de toneladas, seguido da China, com 193 milhões de toneladas (USDA, 2012). O Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial, com cerca de 70 milhões de toneladas na safra agrícola 2011/2012 (CONAB, 2012).

Na última década, a produção nacional de milho apresentou um acréscimo médio anual de 5,4% (BNDES, 2011). O aumento da área destinada ao cultivo de segunda safra, com início no mês de fevereiro, e o incremento da tecnologia utilizada na cultura tem sido fatores determinantes para os atuais níveis de produção. As lavouras da região Sudeste possuem as maiores produtividades nacionais e a região Centro-oeste possui a maior área cultivada. Apesar disso, a região Sul destaca-se com a maior produção, sendo responsável por mais de 37% da produção nacional do grão (SEAB, 2011).

Apesar do destaque no ranking mundial, o Brasil não figura entre os países com as maiores produtividades. Um dos fatores responsáveis pelo baixo rendimento é o grande número de pequenos produtores que cultivam este cereal (CRUZ et al., 2011). A agricultura familiar é responsável por cerca de 84% da produção nacional de milho, justificando, assim, a baixa produtividade média do país. Além de destinarem grande parte da produção ao consumo interno da propriedade, os pequenos produtores não possuem acesso às novas tecnologias empregadas na cultura, como a adubação, a utilização de híbridos de alta tecnologia, o correto manejo do solo e o manejo integrado de insetos, plantas daninhas e doenças, os quais evitariam grandes danos ao potencial de rendimento da cultura (CRUZ et al., 2011).

No Estado do Paraná o milho é uma cultura de fundamental importância econômica e social devido à significativa renda e ao grande número de empregos gerados em toda a cadeia produtiva (SEAB, 2011). Na safra 2011/2012, foram semeados 3 milhões de hectares,

com produtividade média de 5.639 kg ha⁻¹, refletindo em aproximadamente 17 milhões de toneladas. Estes resultados confirmam o Estado do Paraná no primeiro lugar do ranking nacional, sendo responsável por 24% da produção de milho (CONAB, 2012).

A adoção do cultivo do milho de segunda safra ou safrinha no Estado vem sendo incrementada a cada ano. Na safra agrícola 2011/2012, aproximadamente 68% da área cultivada com milho foi devido à semeadura de segunda safra, refletindo em 61% da produção estadual (CONAB, 2012). Neste contexto, os principais fatores que explicam os aumentos sucessivos da área de cultivo de milho nesta época de semeadura são a possibilidade do uso racional da área, maquinários e mão-de-obra no período ocioso, os melhores preços na comercialização e o menor custo operacional (TSUNECHIRO; ARIAS, 1997).

3.2 MELHORAMENTO GENÉTICO NA CULTURA DO MILHO

O grande crescimento demográfico mundial tem sido o principal responsável pelo crescente progresso na tecnificação da produção de alimentos. Neste sentido, são conhecidas três alternativas capazes de incrementar a produção, sendo elas: a expansão da área cultivada, a melhoria das condições ambientais de cultivo e através dos programas de melhoramento genético (BORÉM, 2005). Uma vez que as áreas passíveis de expansão agrícola são limitadas (BORÉM, 2005) e que o uso indiscriminado de insumos agrícolas pode, além de aumentar significativamente o custo de produção (DUARTE et al., 2010), acarretar em graves danos ao meio ambiente e à saúde dos produtores e consumidores (CAMELINI; CASTILLO, 2012), o melhoramento genético torna-se a alternativa mais eficaz para o aumento da produção de alimentos através do incremento no potencial de rendimento das culturas (MARTIN et al., 2007).

A seleção de genótipos com maior potencial produtivo e que exijam menor investimento em tratamentos culturais, são os maiores desafios para os melhoristas de plantas. Na cultura do milho, a metodologia mais utilizada é o emprego do vigor híbrido. A tecnologia do milho híbrido é uma das maiores contribuições práticas da genética vegetal para a agricultura mundial, pois explora a heterose dos genótipos oriundos do cruzamento entre duas ou mais linhagens endogâmicas contrastantes (MIRANDA; GALVÃO, 2008).

Até o início da década de 30 a produção de milho no Brasil estava restrita às variedades de polinização aberta. Apenas, em 1932 iniciaram-se as primeiras pesquisas de melhoramento da cultura no país. Grandes avanços foram observados após o lançamento do primeiro híbrido duplo em 1946 e do primeiro híbrido simples em 1952 (FANCELLI, 1994),

sendo o segundo país a adotar o milho híbrido no sistema de produção, com evidentes reflexos na produtividade nacional (VENCOVSKY; RAMALHO, 2000).

O melhoramento genético na cultura do milho, entre as décadas de 30 e 70, permitiu incrementos anuais de 78 kg ha⁻¹ na produtividade (COELHO; CRUZ; PEREIRA FILHO, 2002). Entretanto, nos últimos 5 anos o acréscimo na produtividade da cultura foi de 943 kg ha⁻¹ (CONAB, 2012), resultado da utilização de híbridos mais produtivos e mais adaptados aos diferentes ambientes de cultivo, além do emprego de práticas culturais mais eficientes (OLIVEIRA et al., 2012).

Para alcançar o maior potencial produtivo houve um aumento na utilização de genótipos oriundos de germoplasma de clima temperado pelos programas de melhoramento do Brasil. Estes genótipos possuem como principais características: menor porte, precocidade do ciclo e maior índice de colheita. A associação destas características nos híbridos comerciais tem permitido o uso de maiores densidades populacionais, o que proporcionou flexibilidade nos sistemas de rotação de culturas (COELHO; CRUZ; PEREIRA FILHO, 2002). Nos últimos anos, os programas de melhoramento de milho tem dado ênfase à incorporação de genes de resistência à insetos e doenças nos híbridos modernos em função das significativas reduções no potencial de rendimento da cultura ocasionados por estes agentes (MIRANDA; GALVÃO, 2008).

3.3 DOENÇAS NA CULTURA DO MILHO NO BRASIL

O milho, diferentemente de outras culturas agrícolas como o trigo, a soja e o feijão, é cultivado com reduzido número de plantas por unidade de área. Como consequência, a contribuição individual de cada planta para a produtividade final de uma lavoura é muito maior. Neste sentido, o sucesso no momento da semeadura, visando uma perfeita plantabilidade e a manutenção do estande, através da maior sanidade das plantas até a ocasião da colheita, são práticas essenciais para a obtenção de altas produtividades (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006).

No Brasil a partir do final da década de 90, a incidência e a severidade de doenças na cultura do milho aumentaram consideravelmente (JULIATTI et al., 2007). Esse fato é resultado do aumento gradual na quantidade de patógenos nas áreas de semeadura da cultura devido à diversos fatores como: a expansão da fronteira agrícola, a ampliação das épocas de semeadura, a ausência de rotação de culturas, o aumento da irrigação e o uso de cultivares suscetíveis (PEREIRA; CARVALHO; CAMARGO, 2005).

Os danos relativos à doenças na cultura do milho são amplamente registrados na literatura (BRANDÃO et al., 2003; CALGARO et al., 2010; COSTA et al., 2010; MATIELLO et al., 2013), sendo frequentemente observados em todas as regiões produtoras do país. Dentre os maiores danos relatados, destaca-se a epidemia de cercosporiose (*Cercospora zae-maydis* Tehon & E. Y. Daniels) ocorrida em 2000, na região sudoeste do Estado de Goiás, com redução de 80% na produtividade das lavouras (PINTO; SANTOS; WRUCK, 2006).

Das doenças que incidem na cultura do milho, as de origem fúngica são responsáveis pelas maiores limitações no potencial produtivo (WHITE, 1999). Neste complexo, destacam-se as doenças foliares e as podridões de colmo e de espiga (COSTA; CASELA; COTA, 2009). As podridões de colmo ocasionam a obstrução dos vasos condutores de seiva e a degradação dos tecidos internos dos colmos das plantas. Como consequência pode ser observada redução na taxa de enchimento de grãos, morte prematura e acamamento das plantas (MATIELLO et al., 2013; REIS et al., 2004). Nas espigas destacam-se por causar tanto danos quantitativos quanto qualitativos, podendo estar associadas à incidência de grãos ardidos (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006). A incidência de fungos sobre os grãos pode reduzir o peso e a qualidade nutricional, devido à presença de micotoxinas produzidas por alguns microorganismos (PINTO, 2007).

As doenças foliares são responsáveis pela redução da área fotossinteticamente ativa das plantas de milho. As lesões no limbo foliar, ocasionadas pela infecção e colonização dos tecidos, diminuem a área verde das folhas, resultando no decréscimo direto na taxa de fotossíntese, com reflexos negativos no peso dos grãos (POSSATTO JUNIOR et al., 2012).

Entre as doenças foliares consideradas de maior importância para a cultura do milho no Brasil, são relatadas a cercosporiose, a mancha branca (*Phaeosphaeria maydis* (P. Henn) Rane, Payak & Renfro), a ferrugem polissora (*Puccinia polysora* Underw), a ferrugem tropical (*Physopella zae* (Mains) Cummins & Ramachar) e a helmintosporiose (*Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard & Suggs) (COSTA; CASELA; COTA, 2009). Além destas, a antracnose foliar, considerada de importância secundária para a cultura, tem ocasionado danos significativos em algumas regiões produtoras (WORDEL; CASA, 2010).

O *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose em milho, apresenta uma fase necrotrófica no ciclo de vida, ou seja, possui a capacidade de sobreviver em resíduos culturais na superfície do solo. Devido a esta característica, o patógeno foi reconhecido como um dos principais problemas na cultura do milho em várias regiões do mundo (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). Desta maneira, práticas culturais como o plantio

direto na palha, associado à ausência da rotação de culturas, ao aumento do uso de áreas irrigadas e ao incremento das áreas de cultivo de milho de segunda safra, tem favorecido o crescimento da incidência e da severidade deste patógeno (FERREIRA; CASELA, 2001), tanto pela antracnose do colmo quanto pela antracnose foliar em várias regiões do mundo (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

3.4 ANTRACNOSE FOLIAR EM MILHO

Nos Estados Unidos a antracnose do milho foi considerada de importância secundária até 1972 (WARREN et al., 1973; WARREN; NICHOLSON, 1975). Porém, neste mesmo ano foram registradas várias ocorrências de severidade moderada em colmos de milho no Estado da Carolina do Norte e uma epidemia severa em campos de milho doce no Estado de Indiana (WARREN et al., 1973). Segundo Wheeler, Politis e Poneleit (1974) esta epidemia nas lavouras de milho doce ocorreu devido ao aparecimento de uma raça mais agressiva de *C. graminicola*, em 1969, a qual foi identificada em pelo menos cinco Estados Norte-americanos em 1971, impedindo o cultivo nessas áreas por um período de dois anos.

No Brasil, o primeiro relato da antracnose do milho foi realizado em 1965, em campos de produção de sementes de milho híbrido, na região de Campinas, Estado de São Paulo (SILVEIRA; FIGUEIREDO; CRUZ, 1965). Desde então, a incidência da antracnose tem sido relatada em todas as regiões produtoras do país, seja sob condições de cultivo de primeiro ou segunda safra (CRUZ et al., 1996; FERNANDES; BALMER, 1990).

O incremento do cultivo de segunda safra, aliado ao plantio direto na palha sem rotação de culturas e o aumento da utilização de sistemas de irrigação no país, tem contribuído para o crescimento da severidade da antracnose em todas as regiões produtoras do Brasil (MORELLO, 2000). A incidência e a severidade da antracnose, e, por consequência, os danos na produtividade, dependem do estágio fenológico da cultura, do genótipo utilizado e do ambiente de cultivo (CALLAWAY; SMITH; COFFMAN, 1992; NAZARENO, 1989). Smith (1976) estudando os efeitos da antracnose foliar na produtividade de milho dentado, nos Estados Unidos, relatou danos de 19 e 28% para híbridos e linhagens, respectivamente. Porém, especificamente para o Brasil, ainda não existem estimativas de danos no rendimento de grãos em função da antracnose foliar.

O agente causal da antracnose foliar no milho é o fungo *C. graminicola*. A fase sexual do patógeno corresponde a *Glomerella graminicola* Politis. Esta forma é raramente encontrada na natureza e produz ascósporos unicelulares e hialinos, depositados no interior de

ascas de formato cilíndrico a clavado, ambos produzidos em peritécios (FERREIRA; CASELA, 2001).

A forma assexuada do patógeno possui esporos chamados de conídios, os quais são unicelulares, hialinos e falciformes. Com dimensões de aproximadamente 30 μ de comprimento e 50 μ de largura, são gerados sobre conidióforos igualmente hialinos e asseptados. Os conídios e conidióforos são produzidos no interior de estruturas estromatais formadas em cavidades subepidérmicas, denominadas de acérvulos (FERREIRA; CASELA, 2001). Os conídios são envoltos por uma matriz mucilaginosa extracelular. Esta matriz, composta por polissacarídeos e proteínas, garante a sobrevivência do patógeno em períodos de seca e facilita o processo de disseminação dos conídios. Uma vez envoltos pela matriz mucilaginosa, os conídios de *C. graminicola* podem sobreviver por meses, mesmo sob condições de umidade relativa inferior a 45%. Os conídios são liberados pela ação dos respingos da água da chuva ou da irrigação, promovendo a dissolução da matriz mucilaginosa e dispersão dos esporos a curtas distâncias (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

O *C. graminicola* é um fungo hemibiotrófico que sobrevive em resíduos culturais de milho sobre a superfície do solo. Neste sentido, o aumento da antracnose foliar está correlacionado, principalmente, ao sistema de plantio direto na palha (JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011). Entretanto, se os resíduos vegetais forem enterrados o fungo perde rapidamente a capacidade de sobrevivência (LIPPS, 1983; NAYLOR; LEONARD, 1977; VIZVARY; WARREN, 1982). Os conídios produzidos nos resíduos culturais na superfície do solo são a fonte primária de inóculo para as infecções foliares. Em contrapartida, os esporos produzidos nas lesões foliares, servem como inóculo secundário para novas infecções foliares, bem como para as infecções de colmo e de sementes (LIPPS, 1988).

O patógeno *C. graminicola* pode infectar todas as partes da planta de milho, incidindo sobre as raízes, sementes, colmos e folhas (DALE, 1963). Sementes infectadas podem causar grandes danos ao estande da cultura (WARREN; NICHOLSON, 1975). Muito embora a incidência da antracnose em sementes possa chegar a 50% (WARREN, 1977), pouco se conhece sobre a interação patógeno-semente (MORELLO, 2000). Os sintomas no colmo surgem geralmente na epiderme logo após o estágio de florescimento pleno da cultura. Os tecidos internos dos colmos apresentam lesões de coloração marrom-escura, podendo haver a desintegração total dos mesmos (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006). Em genótipos altamente suscetíveis pode ocorrer a murcha vascular, sintoma conhecido como “top dieback” ou morte do ponteiro, o qual caracteriza-se pela morte precoce das folhas e

entrenós superiores durante o estágio de formação dos grãos (SMITH; WHITE, 1988; WHITE; YANNEY; NATTI, 1979).

A antracnose foliar pode ser detectada em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura, porém, é mais evidente em plântulas e plantas adultas, principalmente após a antese (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987b; LEONARD; THOMPSON, 1976). As lesões destacam-se por serem necróticas de coloração parda, arredondadas ou ovaladas, podendo coalescer, ocasionando a queima total das folhas. Sobre as lesões pode ser observada a formação de uma grande quantidade de acérvulos, sinais que auxiliam na identificação da doença à campo e em laboratório (FERREIRA; CASELA, 2001). As lesões da antracnose foliar limitam a produtividade da cultura devido à redução da área fotossinteticamente ativa. Além do mais, servem como fonte de inóculo secundário para infecções de outras partes da planta como o colmo e as sementes (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

Diante do potencial destrutivo da antracnose foliar e tendo em vista que a severidade desta doença pode ser influenciada pela temperatura, umidade relativa do ar, luminosidade, genótipo e adubação utilizada, estudos visando elucidar as melhores condições para o desenvolvimento da doença são de suma importância (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

Leonard e Thompson (1976) estudaram os efeitos de seis temperaturas (20, 24, 26, 28, 30 e 32°C) sobre o desenvolvimento da antracnose foliar em milho e observaram que sob temperatura constante de 30°C as lesões cresceram mais rapidamente, evidenciando o melhor desenvolvimento do patógeno sobre o hospedeiro. Young-Kook et al. (2000) avaliaram a potencialidade de *C. graminicola* como um mico-herbicida no controle do capim arroz. Para isso, submeteram o isolado KA001 à várias temperaturas, avaliando o crescimento micelial, germinação dos conídios e a taxa de esporulação, tanto em meio de cultura quanto no hospedeiro. Em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), a maior germinação dos conídios ocorreu numa amplitude de temperatura de 20 a 30°C, o maior crescimento micelial de 25 a 30°C e a maior taxa de esporulação a 30°C. Em casa de vegetação, a colonização das plantas de capim arroz pelo isolado KA001 foi favorecida por temperaturas de 20 a 30°C, uma vez que foi observada maior quantidade de conídios na superfície do hospedeiro nesta faixa de temperatura.

A umidade relativa do ar e a luminosidade também são fatores que influenciam o desenvolvimento do patógeno. Períodos de alta umidade relativa favorecem o desenvolvimento da doença, pois além de ser uma condição necessária para a esporulação do patógeno, é essencial na dispersão dos conídios. Por outro lado, condições de alta luminosidade, influenciam negativamente o desenvolvimento de *C. graminicola* nos tecidos

do hospedeiro, acarretando em menor severidade da doença (HAMMERSCHIMDT; NICHOLSON, 1977). Provavelmente, sob alta luminosidade, ocorre maior síntese de compostos fenólicos pela planta. Estes compostos são extremamente dependentes de luz e estão diretamente correlacionados à expressão da resistência em plantas (JENNS; LEONARD, 1985; SCHALL; NICHOLSON; WARREN, 1980).

Além da influência dos fatores climáticos, a severidade da antracnose foliar pode variar de acordo com a adubação utilizada. Carvalho et al. (2008) estudaram o efeito adubação com nitrogênio (N) e potássio (K) em cobertura sobre a severidade da antracnose foliar em milho. Não foi verificado diferença na severidade da doença com relação às doses de N. Por outro lado, verificou-se o aumento do período latente do patógeno em virtude do incremento nas doses de potássio (K), fato relacionado à presença deste nutriente na regulação osmótica das células vegetais e na síntese de proteínas. Malavolta (2006) relatou que níveis adequados de K aumentam-se a rigidez dos tecidos e a quantidade de proteínas estruturais, enzimáticas e protetoras, além do acúmulo de substâncias de ação fungistática, como os fenóis e as fitoalexinas, ao redor dos sítios de infecção do patógeno. Desta forma, aumentar-se-ia a resistência à penetração e à colonização dos tecidos do hospedeiro pelo patógeno, contribuindo para a redução do potencial do inóculo.

3.5 CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR

Pouco se conhece sobre os mecanismos específicos de defesa das plantas de milho ao agente causal da antracnose foliar. Entretanto, sabe-se da existência de respostas bioquímicas e fisiológicas gerais em relação às infecções de fungos fitopatogênicos (MORELLO, 2000; REZENDE, 2004). A resposta do milho às infecções fúngicas foliares envolve principalmente o estímulo à biossíntese de compostos fenólicos de atividade fungitóxica, especialmente os fenilpropanóides (AGRIOS, 2005; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). Além disso, a produção de lignina antes e após a penetração nos tecidos do hospedeiro e o acúmulo de antocianina ao redor das lesões, também servem como barreira física e química à penetração do patógeno, restringindo o crescimento do fungo (AGRIOS, 2005; HAMMERSHIMDT; NICHOLSON, 1977; LYONS et al., 1993).

Diversos estudos foram realizados com o objetivo de elucidar o controle genético da resistência de milho à antracnose foliar. A maioria destes verificou a presença de poucos genes condicionando a resistência, com predomínio dos efeitos genéticos aditivos (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987b; CARSON; HOOKER, 1981a; LIM; WHITE,

1978; SILVA, 1983; ZUBER et al., 1981). No entanto, existem relatos de herança monogênica (COÊLHO et al., 2001; REZENDE et al., 2004) e poligênica (REZENDE et al., 2004), com ação gênica de dominância para a resistência (CARSON; HOOKER, 1981a; COÊLHO et al., 2001; LIM; WHITE, 1978; REZENDE et al., 2004).

Lim e White (1978) através da avaliação de 45 híbridos obtidos de cruzamentos dialélicos entre dez linhagens endogâmicas, encontraram efeitos heteróticos negativos quando genitores contrastantes estavam envolvidos no cruzamento, sugerindo dominância parcial para a resistência de milho à antracnose foliar. As estimativas da capacidade geral e específica de combinação, evidenciaram a importância tanto dos efeitos aditivos quanto dos dominantes, sendo os efeitos aditivos de maior magnitude nestes cruzamentos.

Carson e Hooker (1981a) avaliaram as gerações de cinco famílias originadas do cruzamento entre cinco linhagens resistentes com uma suscetível à antracnose foliar. De acordo com a análise de médias das gerações, em quatro famílias houve predomínio dos efeitos genéticos aditivos em relação aos de dominância. Apenas numa família, a maior porcentagem da variação fenotípica foi explicada pelos desvios do modelo genético aditivo-dominante, possivelmente explicada pela interação gênica ou pela ausência de uma escala diagramática adequada para a avaliação da severidade da antracnose foliar. Adicionalmente, os autores relataram a ocorrência de segregação transgressiva na geração F_2 em todas as famílias, indicando que nos cruzamentos envolvendo linhagens de resistência intermediária podem ser obtidas progêies com resistência superior às linhagens parentais.

Segregação transgressiva também foi observada na geração F_2 de alguns cruzamentos estudados por Silva (1983), através da avaliação da porcentagem da nervura central lesionada por *C. graminicola*. O autor estudou as gerações de cinco famílias derivadas dos cruzamentos entre seis linhagens com diferentes níveis de resistência à antracnose foliar. As plantas de milho foram avaliadas com base nos tipos de lesão do limbo foliar e na porcentagem de nervura central lesionada. Os resultados obtidos para ambos os métodos de avaliação, indicaram a presença de poucos genes, com ação gênica do tipo aditiva no controle da resistência. Apesar do mesmo padrão de herança, foi observado ausência de correlação entre a resistência à antracnose do limbo foliar e da nervura central, uma vez que as linhagens apresentaram desempenho diferenciado em relação aos métodos de avaliação da antracnose foliar.

O primeiro caso de herança monogênica para resistência de milho à antracnose foliar foi relatado por Coêlho et al. (2001). Os autores avaliaram a resistência das gerações F_1 e F_2 provenientes do cruzamento entre uma linhagem resistente (L64) e uma suscetível (L186). Em

todos os experimentos, cerca de 75% das plantas da geração F₂ foram resistentes enquanto as demais suscetíveis à antracnose foliar. Estes resultados são indicativos de herança monogênica com dominância completa para o alelo de resistência oriundo da linhagem endogâmica L64.

Rezende et al. (2004) estudando a herança da resistência à antracnose foliar em quatro cruzamentos, evidenciaram a ação de poucos genes no controle do caráter, com efeitos gênicos de dominância. Essas evidências são o reflexo do maior número de indivíduos nas classes resistentes e à ausência de um padrão de distribuição normal dos dados de escala. Ao estudar a herança através de modelos mistos, os autores observaram a presença de um gene de efeito maior e de poligenes, com ação gênica aditiva e de dominância. Em todos os modelos os efeitos genéticos foram negativos, indicando a contribuição dos mesmos para a redução da severidade da doença nas gerações de segregação.

As lesões da antracnose foliar do milho servem como fonte secundária de inóculo para novas lesões foliares e para a antracnose do colmo (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). A herança da resistência à podridão de colmo causada por *C. graminicola* tem sido relatada por poucos genes, com a presença de efeitos genéticos prioritariamente aditivos, além de efeitos de dominância (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987a; CARSON; HOOKER, 1981b; LIM; WHITE, 1978; MATIELLO et al., 2012; MÁXIMO, 2013).

Os resultados em relação ao número de genes e à ação gênica envolvida na resistência às duas fases da doença, foliar e de colmo, são semelhantes. Apesar disso, alguns estudos indicam que a herança da resistência à fase foliar e à podridão do colmo são herdadas independentemente (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987c; MORELLO, 2000; ZUBER et al., 1981).

Morello (2000) estudou a relação entre a herança da resistência à fase foliar e à de colmo, objetivando identificar possíveis associações entre os genes de resistência. A herança da resistência para as duas fases da doença foi monogênica, com ação gênica de dominância para o alelo de resistência. A partir dos dados da distribuição de frequência confirmou que os genes responsáveis pela resistência à antracnose foliar e à podridão de colmo segregam independentemente, descartando a possibilidade de pleiotropia ou ligação gênica.

Existem algumas dificuldades práticas referentes aos processos de inoculação do patógeno e à avaliação à campo da resistência/suscetibilidade de genótipos de milho à antracnose foliar. Desta forma, a associação de marcadores moleculares à QTLs (*Quantitative Trait Loci*) de resistência a esta doença podem ser muito úteis, permitindo a seleção até mesmo na ausência da doença (REZENDE, 2004). Através de marcadores microssatélites,

Morello (2000) encontrou polimorfismo molecular próximo ao gene *Rcg1*, o qual confere resistência à antracnose foliar (MICHELMORE; PARAN; KESSELI, 1991). Fortes evidências indicam que, na população estudada, o gene *Rcg1* está localizado no braço longo do cromossomo 2 do milho. Esta região foi amplificada com a utilização do primer microssatélite nc003 e, na análise de ligação, foi observado que este marcador está co-localizado a 31,9 cM do gene *Rcg1*.

Rezende (2004) visando identificar regiões genômicas associadas aos genes que conferem resistência à antracnose foliar, testou diferentes marcadores moleculares em uma população segregante de retrocruzamento. Tanto pelo método de análise de regressão múltipla quanto pelo mapeamento por intervalo composto, foi detectada a existência de um QTL associado à resistência à antracnose foliar no cromossomo 10, o qual explicou até 32,3% da variação fenotípica dos experimentos realizados. Além disso, através da análise de regressão linear múltipla foram detectados QTLs nos cromossomos 2, 3 e 5, os quais explicaram até 25,7% da variação fenotípica para a resistência à antracnose foliar.

A antracnose foliar tem sido relatada mundialmente como uma doença com grande potencial de dano para a cultura do milho. Além de causar decréscimo na produtividade devido a redução da área fotossinteticamente ativa, as lesões foliares são fonte de inóculo para a podridão do colmo. Diante da possibilidade do aumento da incidência e da severidade desta doença, uma das alternativas de controle é o emprego de genótipos resistentes. Neste sentido, informações sobre a herança e a ação gênica envolvidas na resistência à antracnose foliar são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias visando a incorporação de locos de resistência em populações melhoradas de milho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas safras agrícolas de 2011/2012 e 2012/2013 na Fazenda Escola “Capão da Onça” da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no município de Ponta Grossa, PR. A área experimental está localizada no Segundo Planalto Paranaense, a 25°05'49"S de latitude Sul e 50°03'11" de longitude Oeste, com altitude máxima de 1027 m.

O solo é classificado como um CAMBISSOLO HÁPLICO Tb Distrófico típico, com textura argilosa (EMBRAPA, 2006). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é tipificado como Cfb, ou seja, subtropical úmido, mesotérmico, sem estação seca definida e com geadas frequentes no inverno. A temperatura média nos meses mais quentes é de 21,4°C e nos meses mais frios de 13°C, com média pluviométrica anual de 1574 mm (IAPAR, 2012).

4.1 MATERIAL VEGETAL

Inicialmente foram instalados três experimentos visando a caracterização de linhagens endogâmicas de milho para a resistência ou suscetibilidade à antracnose foliar. Em cada experimento foram utilizadas dezesseis linhagens endogâmicas do germoplasma de milho tropical pertencente ao programa de melhoramento da Universidade Estadual de Ponta Grossa, originadas de variedades de milho crioulas, sendo elas: L 03-2, L 04-2, L 22-1, L 23-1, L 70-2, L 70-4, L 71-1, L 71-2, L 87-3, L 95-1, L 99-3, L 99-4, L 118-4, L 118-8, L 129-4 e L 141-1.

Para o estudo da herança da resistência de milho à antracnose foliar, foram utilizadas seis famílias originadas do cruzamento entre duas linhagens endogâmicas resistentes (L 04-2 e L 23-1) e três suscetíveis (L 70-2, L 71-1 e L 95-1). Os cruzamentos artificiais entre as linhagens contrastantes para a resistência à antracnose foliar foram desenvolvidos de forma a obter-se as seis famílias analisadas: $L_R 04-2 \times L_S 70-2$, $L_R 04-2 \times L_S 71-1$, $L_R 04-2 \times L_S 95-1$, $L_R 23-1 \times L_S 70-2$, $L_R 23-1 \times L_S 71-1$ e $L_R 23-1 \times L_S 95-1$.

Dentro de cada família foram estudadas as seguintes gerações: P_1 - linhagem endogâmica resistente, P_2 - linhagem endogâmica suscetível, F_1 - a geração filial oriunda do cruzamento entre P_1 e P_2 , F_2 - a geração segregante obtida pela autofecundação da geração F_1 , RC_1 - o retrocruzamento da geração F_1 com a linhagem resistente (P_1) e RC_2 - o retrocruzamento da geração F_1 com a linhagem suscetível (P_2).

4.2 EXPERIMENTOS DE CAMPO

O sistema de semeadura utilizado nos experimentos foi o plantio direto na palha de aveia ou trigo. As áreas experimentais foram inicialmente dessecadas com glifosato (Trop[®] SL) e paraquat (Gramoxone[®] 200 SL), nas doses de 3,0 e 0,2 L de p. c. ha⁻¹, respectivamente, acrescidos de 0,3 L de p. c. ha⁻¹ de óleo mineral (Dash[®] HC CE). As áreas foram riscadas e adubadas mecanicamente com o auxílio de uma semeadora/adubadora da marca Semeato, modelo PS-8, com espaçamento entrelinhas de 0,8 m e adubação de base ajustada para 300 kg ha⁻¹ de NPK da fórmula comercial 10-20-20, seguido da semeadura manual das respectivas famílias/gerações. A adubação de cobertura foi realizada quando as plantas apresentavam quatro e seis folhas completamente expandidas, com a aplicação de 200 kg ha⁻¹ de NPK, da fórmula comercial 36-00-12. O controle de plantas daninhas foi realizado em pós-emergência da cultura pela aplicação dos herbicidas atrazina (Primóleo[®] SC) e tembotriona (Soberan[®] SC), nas doses de 3,0 e 0,2 L de p. c. ha⁻¹. Para o controle de pragas foram utilizados os inseticidas tiodicarbe (Larvin[®] WG) e triflumuron (Certero[®] SC), nas doses de 0,1 kg ha⁻¹ e 0,1 L de p. c. ha⁻¹.

4.2.1 Caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar nas linhagens endogâmicas

Os três experimentos de campo foram semeados manualmente em 24/11/2011, 28/09/2012 e 19/12/2012. Em cada experimento foram utilizadas dezesseis linhagens endogâmicas do programa de melhoramento da UEPG, conforme descrito no item 4.1. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas de uma linha de 4,0 m de comprimento, no primeiro experimento, e de 3,0 m no segundo e no terceiro experimentos, com espaçamento de 0,8 m na entrelinha e densidade de semeadura de 62.500 sementes ha⁻¹.

4.2.2 Ensaios de herança da resistência de milho à antracnose foliar

Os dois experimentos de campo visando elucidar a herança genética da resistência de seis famílias de milho à antracnose foliar, foram conduzidos na safra agrícola 2012/2013, com semeadura em 28/09/2012 e 17/12/2012, respectivamente. Os experimentos foram instalados no delineamento experimental de blocos casualizados com três repetições. Os tratamentos

foram arranjados em esquema de parcela subdividida, sendo estudado o efeito das famílias na parcela e o efeito das gerações nas subparcelas. As subparcelas consistiram de linhas de 3,0 m de comprimento, com espaçamento de 0,8 m na entrelinha e densidade de semeadura de 62.500 sementes ha^{-1} . As gerações consideradas geneticamente uniformes (P_1 , P_2 e F_1) de cada família, foram representadas por uma linha por repetição, as populações segregantes da geração F_2 com quatro linhas por repetição e as gerações de retrocruzamento (RC_1 e RC_2) por duas linhas por repetição.

4.3 MULTIPLICAÇÃO DO ISOLADO E OBTENÇÃO DO INÓCULO

A manutenção, a multiplicação do isolado e o preparo do inóculo de *C. graminicola* foram realizados no Laboratório de Genética Molecular na Universidade Estadual de Ponta Grossa. O isolado de *C. graminicola* foi cedido pela empresa DowAgroSciences Ltda. (Jardinópolis, SP), na forma de discos de meio de cultura com colônias do fungo, preservados pelo método Castellani (1939).

A multiplicação inicial do patógeno foi realizada através da transferência dos discos com colônias do fungo para o centro de placas de Petri contendo meio de cultura aveia-ágar (10 g de farinha de aveia, 2,5 g de ágar e 250 mL de água destilada), sendo mantidas à temperatura ambiente sobre as bancadas do laboratório. As multiplicações subsequentes do fungo foram realizadas através de suspensão concentrada de esporos em placas de Petri contendo meio de cultura aveia-ágar. As placas foram mantidas em bancada sob temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), até a obtenção das colônias completamente esporuladas.

Para preservar a patogenicidade do isolado, reisolamentos periódicos do patógeno foram realizados. Para isso, plantas de milho cultivadas em vasos plásticos, foram inoculadas através da pulverização de uma suspensão de esporos de *C. graminicola* na superfície das folhas até o ponto de escorrimento. Imediatamente após a inoculação, os vasos contendo as plantas foram cobertos com sacos plásticos de modo a simular uma câmara úmida, onde foram mantidos por 48 horas, objetivando fornecer as condições ideais de umidade para o desenvolvimento do patógeno. Após a retirada do saco plástico as plantas foram mantidas no laboratório, sob temperatura ambiente, até o aparecimento dos sintomas típicos da antracnose foliar.

O reisolamento do fungo foi efetuado através do método indireto de isolamento de fungos fitopatogênicos. A metodologia consistiu na deposição de quatro fragmentos de folha com sintomas da doença, previamente desinfestados, de forma equidistante, em placas de

Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). As placas foram vedadas com filme plástico transparente (PVC) e mantidas sob temperatura ambiente no laboratório. Após a colonização da superfície do meio de cultura, fragmentos circulares contendo micélio do fungo foram transferidos para placas com meio de cultura aveia-ágar, mantidas em bancada, até a obtenção das colônias completamente esporuladas.

Para o preparo do inóculo foram adicionados aproximadamente 20 mL de água destilada estéril às placas com as colônias esporuladas, seguida da raspagem superficial do meio de cultura com o auxílio de um pincel para a liberação dos conídios. A suspensão concentrada de conídios foi filtrada através de uma dupla camada de gaze, a fim de separar os esporos de fragmentos de meio de cultura. A suspensão foi ajustada para a concentração de $1,0 \times 10^6$ conídios mL^{-1} na primeira e de $5,0 \times 10^5$ conídios mL^{-1} na segunda inoculação dos experimentos de campo (4.2.1 e 4.2.2). Para cada litro da suspensão final de conídios foi adicionada uma gota de Tween 80[®].

4.4 INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

A inoculação foliar das plantas de milho nos experimentos foi efetuada quando as plantas estavam com seis folhas completamente expandidas, em duas épocas, sendo a segunda inoculação realizada sete dias após a primeira. As duas inoculações foram realizadas ao final da tarde e precedidas de períodos chuvosos, condições ambientais necessárias ao processo de infecção e colonização do patógeno sobre o hospedeiro.

A aplicação do inóculo foi realizada através de um pulverizador costal calibrado a pressão constante de 35 lb pol^{-2} , por CO_2 comprimido, com ponta bico cônico cheio, com pulverização 7 mL da suspensão de conídios no cartucho de cada planta, nas duas inoculações. A concentração final da suspensão de conídios utilizada na primeira e segunda inoculação está descrita no item 4.3. Após a segunda inoculação foi cortada a extremidade da folha mais interna do cartucho, visando identificar no campo as folhas que de fato foram inoculadas com o patógeno para as avaliações.

As avaliações da antracnose foliar foram realizadas a partir do aparecimento dos primeiros sintomas da doença, aproximadamente aos quinze dias após a primeira inoculação. Em cada experimento foram realizadas seis avaliações com intervalo semanal, sendo realizadas nos estádios 2, 3, 4, 5, 6 e 7 da escala fenológica proposta por Fancelli (1986). A caracterização da resistência/suscetibilidade das plantas à antracnose foliar foi através da escala de notas proposta por Silva (1983), com amplitude de notas de 1 (altamente resistente)

a 6 (altamente suscetível), de acordo com a Tabela 1. A avaliação individual das plantas foi baseada na nota consenso de dois avaliadores, tomando-se por base cinco folhas, sendo elas a folha com a extremidade cortada, duas acima e duas abaixo, em todas as plantas da parcela.

Tabela 1 – Escala para o tipo de reação da planta hospedeira, com a respectiva nota e descrição das lesões correspondentes causadas por *Colletotrichum graminicola*.

Tipo de reação	Nota	Descrição
Altamente resistente	1	Presença de pontos cloróticos, “flecks”, lesões necróticas em forma de ponto de até 1 mm.
Resistente	2	Pontos necróticos e pequenas lesões clorótico/ necróticas de até 3 mm de comprimento, formato circular a oval e ausência de esporulação.
Moderadamente resistente	3	Lesões necróticas de 3 a 10 mm de comprimento por 2 a 3 mm de largura, com halo ligeiramente clorótico; lesões de formato circular à alongado; parte central da lesão de cor castanho claro e bordo da lesão de cor castanho escuro e bem definido; com pouca esporulação.
Moderadamente suscetível	4	Lesões necróticas de 10 a 40 mm de comprimento; forma circular à alongada ou irregular; parte central da lesão de cor marrom clara, com bordos marrom claro à escuro, apresentando coalescência entre lesões; com pouca esporulação.
Suscetível	5	Lesões necróticas de 40 a 60 mm, pouca clorose ao redor da lesão; formato circular à oval assim como irregular; parte central da lesão castanho escuro com bordos menos definidos; apresentando esporulação do patógeno e coalescência entre lesões.
Altamente suscetível	6	Queima; confluência de lesões necróticas abrangendo de 60 a 150 mm; ausência de halo clorótico; abundante encharcamento e esporulação.

Fonte: Silva (1983).

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS

4.5.1 Caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar nas linhagens endogâmicas

Os dados médios das notas de escala das seis avaliações pontuais de cada linhagem endogâmica, dos respectivos experimentos, foram utilizados para o cálculo da área abaixo da

curva de progresso da doença (AACPD), através da fórmula proposta por Shaner e Finney (1977):

$$AACPD = \sum_{i=1}^n \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} \times (t_{i+1} - t_i)$$

onde:

n = número de avaliações;

y_i = nota de escala na época de avaliação i ($i = 1, \dots, n$);

y_{i+1} = nota de escala na época de avaliação $i + 1$;

t_i = época da avaliação i ;

t_{i+1} = época da avaliação $i + 1$.

Com o intuito de verificar a eficiência das avaliações pontuais como critério de seleção para resistência à antracnose foliar, foram realizadas as análises de correlação entre as médias das notas obtidas nas avaliações individuais e o valor da AACPD, através do programa estatístico SAS versão 8.1 (SAS INSTITUTE, 2000).

Os dados da segunda, quarta e sexta avaliação e os valores da AACPD de cada linhagem foram submetidos às análises de variâncias conjuntas e individuais, em cada experimento, e as médias das linhagens foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, através do programa estatístico SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 1999). Adicionalmente, foram realizadas as estimativas dos parâmetros genéticos através da esperança matemática dos quadrados médios da análise de variância de cada experimento, de acordo com Vencovsky e Barriga (1992).

A estimativa da variância genética ($\hat{\sigma}_g^2$) foi obtida através da fórmula $\hat{\sigma}_g^2 = 1/r(QM_L - QMe)$, sendo r o número de repetições, QM_L o quadrado médio de linhagens e QMe o quadrado médio do erro, obtidos através da análise de variância. A variância ambiental foi estimada por $\hat{\sigma}_e^2 = QMe$ e o desvio padrão da variância genética por $dp_{\hat{\sigma}_g^2} = \sqrt{\hat{\sigma}_g^2}$. A estimativa da herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) foi realizada através da fórmula $\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{[\hat{\sigma}_g^2 + (\hat{\sigma}_e^2/r)]}$. Além disto, foram estimados o coeficiente de variação genética $CV_g = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{Y_0}$ e o

coeficiente de variação do erro experimental $CV_e = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{Y_0}$, sendo Y_0 a média geral, e o quociente $\hat{b}$, através da relação $\hat{b} = \frac{CV_g}{CV_e}$ (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992).

4.5.2 Ensaios de herança da resistência de milho à antracnose foliar

Os dados médios das notas de escala das seis avaliações pontuais apenas para as cinco linhagens endogâmicas envolvidas nos cruzamentos estudados (L_R 04-2, L_R 23-1, L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1), foram utilizados para o cálculo da AACPD pela fórmula de Shaner e Finney (1977). Objetivou-se conhecer quais avaliações pontuais melhor representariam os valores da AACPD, para que os dados destas avaliações fossem utilizados nas análises genéticas posteriores. Neste sentido, as médias das notas obtidas nas seis avaliações individuais para cada linhagem e os respectivos valores de AACPD foram submetidos à análise de correlação, no programa estatístico SAS versão 8.1.

Os dados da segunda, quarta e sexta avaliação foram submetidos à análise de variância conjunta e individual para cada experimento. Na presença de efeito significativo da fonte de variação geração dentro de família, procedeu-se o desdobramento das gerações dentro de cada família. As médias das gerações foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises de variância e os testes de médias foram realizados no programa estatístico SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 1999).

Para as estimativas dos parâmetros genéticos envolvidos na resistência à antracnose foliar, foram utilizados os dados referentes às notas de escala obtidas na segunda, quarta e sexta avaliação. Os efeitos genéticos foram estimados através da análise das médias das gerações através do modelo genético aditivo-dominante proposto por Mather e Jinks (1971) sendo: $Y_k = \mu + w_1a + w_2d + \theta_k$, no qual Y é a média da geração k , μ é a média geral, a representa os efeitos genéticos aditivos, d os efeitos genéticos dominantes, w_1 e w_2 as contribuições relativas destes efeitos para cada média da geração e θ_k corresponde aos desvios do modelo para cada família.

As estimativas dos parâmetros $\hat{\mu}$, $\hat{a}$ e $\hat{d}$ foram obtidas através da matriz diagonal $\beta = (X'X)^{-1}(X'Y)$ pela 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, β o vetor dos parâmetros e ε o vetor dos erros associados a cada média. As análises de variância para o

estudo das médias de gerações foi pelo método dos quadrados mínimos (MIRANDA FILHO, 1991).

Utilizando-se os dados das notas de cada indivíduo nas três avaliações (segunda, quarta e sexta) foram obtidas as estimativas relativas à cada população segregante da geração F₂: 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 F₂; a variância genotípica $\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 - \hat{\sigma}_{m(F_2)}^2$, sendo $\hat{\sigma}_{m(F_2)}^2$ a variância ambiental; a variância genética aditiva $\hat{\sigma}_{a(F_2)}^2 = \frac{1}{2}a^2 = 2\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 - (\hat{\sigma}_{g(RC_1)}^2 + \hat{\sigma}_{g(RC_2)}^2)$, onde $\hat{a}$ representa a variância devido aos efeitos aditivos; e a variância genética de dominância $\hat{\sigma}_{d(F_2)}^2 = \frac{1}{4}d^2 = \hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 - \hat{\sigma}_a^2$, onde $\hat{d}$ corresponde à variância devido aos desvios de dominância. A herdabilidade no sentido amplo e restrito foram estimadas pelas fórmulas: $\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2} \times 100$ e $\hat{h}_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_{a(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2} \times 100$, respectivamente (CRUZ, 2009).

A heterose ($\hat{H}$) e a heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) foram estimadas por: $\hat{H} = \bar{F}_1 - MP$ e $\hat{H} (\%) = \frac{\hat{H} \times 100}{MP}$, respectivamente, sendo $\bar{F}_1$ a média fenotípica da geração F₁ e **MP** a média das linhagens parentais (L_R e L_S). O número mínimo de genes efetivos para a resistência (n) foi estimada pela fórmula $n = \frac{R^2(1 + 0,5k^2)}{8\hat{\sigma}_g^2}$, onde **R** representa a amplitude de notas da geração F₂ e $k = \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_d^2}{\hat{\sigma}_a^2}}$, sendo **k** o grau médio de dominância baseado em variâncias, onde $\hat{\sigma}_d^2$ corresponde à variância genética dos desvios de dominância e $\hat{\sigma}_a^2$ a variância genética devido aos efeitos aditivos dos genes (CRUZ, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA À ANTRACNOSE FOLIAR NAS LINHAGENS ENDOGÂMICAS

As curvas de progresso das doenças em vegetais são consideradas, pelos epidemiologistas, como a melhor representação de uma epidemia. Os modelos matemáticos de crescimento resumem a relação existente entre a doença e o tempo, facilitando a análise dos dados de progresso da doença entre os diferentes tratamentos (BERGAMIN FILHO, 2011). Neste sentido, a estimativa da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) tornou-se um procedimento comum na caracterização de genótipos resistentes/suscetíveis em vários patossistemas da cultura do milho (BRITO et al., 2008; LANZA, 2009; VIEIRA et al., 2009). Este método de representação de epidemias visa estimar a evolução da doença através do cálculo da AACPD (VIEIRA et al., 2009) a partir da avaliação da severidade da doença ao longo do tempo (JULIATTI; SOUZA, 2005).

Embora a eficiência da AACPD para a caracterização de genótipos resistentes seja inquestionável, este método gera um entrave prático nos programas de melhoramento genético. A estimativa da AACPD exige a realização de pelo menos três avaliações e, devido ao grande número de genótipos testados nos experimentos de competição, este método torna-se demasiadamente laborioso e oneroso. Desta maneira um aspecto importante no estudo de doenças à campo é a escolha da época ideal para proceder a avaliação da severidade, de modo que esta represente adequadamente as reações dos diferentes genótipos durante a epidemia (BRITO et al., 2008).

A utilização da análise de correlação entre as avaliações pontuais da severidade de uma doença e a AACPD, pode servir como parâmetro para a escolha da época de avaliação que melhor discrimine a resistência, acarretando em economia de tempo (VIEIRA et al., 2009). Embora não seja encontrado na literatura este tipo de procedimento para resistência à antracnose foliar, em outros patossistemas de milho a análise de correlação entre avaliações individuais e a AACPD tem sido relatada com sucesso (BRITO et al., 2008; BRUNELLI, 2004; SOUZA; DUARTE, 2002; LOPES et al., 2011; VIEIRA et al., 2009).

Os resultados da análise de correlação entre as seis avaliações realizadas e a AACPD, indicaram correlação alta, positiva e altamente significativa ($p < 0,01$) entre a AACPD e todas as avaliações pontuais para os três experimentos (Tabela 2). Os coeficientes

de correlação variaram de 0,71 à 0,98 no primeiro experimento, correspondendo à primeira e à quarta avaliação, respectivamente. No segundo experimento, as estimativas foram maiores, com variação de 0,88 na sexta à 0,98 na quarta avaliação. Para o terceiro experimento, a amplitude foi de 0,83 à 0,97, para a primeira e terceira avaliação, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Coeficientes de correlação entre as seis avaliações da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para os três experimentos de linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays*). Ponta Grossa - PR, 2013.

Avaliações/Estádio Fenológico	1º experimento	2º experimento	3º experimento
	AACPD	AACPD	AACPD
1ª/2	0,71 **	0,90 **	0,83 **
2ª/3	0,93 **	0,95 **	0,94 **
3ª/4	0,97 **	0,97 **	0,97 **
4ª/5	0,98 **	0,98 **	0,95 **
5ª/6	0,97 **	0,97 **	0,95 **
6ª/7	0,93 **	0,88 **	0,89 **

** significativo a 1% de probabilidade.

Para os três experimentos, os menores coeficientes de correlação podem ser visualizados para a primeira e sexta avaliação (Tabela 2). Os baixos coeficientes da primeira avaliação, provavelmente estejam associados ao início do aparecimento dos sintomas, período de baixa intensidade da doença, lesões pequenas e não características da reação típica de genótipos suscetíveis. Deste modo, pode-se inferir que avaliações muito precoces da severidade da antracnose foliar, podem acarretar em perdas significativas de informação quando comparadas à AACPD. Do mesmo modo, os baixos coeficientes de correlação da sexta avaliação, justificam-se pelo estágio avançado de desenvolvimento da cultura do milho. Neste sentido, lesões de doenças de final de ciclo, ou necroses devido à senescência natural das folhas, podem ser fundidas com as lesões da antracnose, ocasionando a superestimativa da doença, reduzindo a equivalência desta avaliação com a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) nos experimentos.

Uma vez que os maiores coeficientes de correlação da AACPD foram observados desde a segunda até a quinta avaliação, pode-se inferir sobre a eficiência deste período (15 aos 35 dias após a segunda inoculação) na discriminação da resistência/suscetibilidade das linhagens endogâmicas de milho, fornecendo resultados semelhantes aos proporcionados pela estimativa da AACPD. De modo semelhante, outros autores obtiveram êxito na avaliação da severidade da antracnose foliar em milho com aproximadamente quinze dias após as inoculações (BARBOSA, 2001; LIM; WHITE, 1978; REZENDE et al., 2004).

Leonard e Thompson (1976) estudaram os efeitos do estágio de desenvolvimento das plantas de milho na resistência/suscetibilidade à antracnose foliar. Os tratamentos consistiram na inoculação de plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, variando de duas a oito semanas após a semeadura. Os autores observaram maior suscetibilidade em plantas mais jovens, inoculadas com duas à três semanas, e em plantas adultas, inoculadas com seis, sete e oito semanas após a semeadura.

Neste trabalho, optou-se por analisar os dados da segunda avaliação, de modo a representar a suscetibilidade das linhagens enquanto plântulas; da quarta, por ser uma avaliação intermediária, a fim de evidenciar possíveis diferenças entre as linhagens endogâmicas durante o desenvolvimento da epidemia; da sexta avaliação, para confirmar diferenças de resistência/suscetibilidade entre as linhagens no estágio de planta adulta; e, por fim, os dados da AACPD, por ser considerada uma estimativa que melhor representa as reações dos genótipos durante o período de desenvolvimento da doença.

Inicialmente testou-se a homocedasticidade das variâncias residuais dos três experimentos, para os dados das três avaliações (segunda, quarta e sexta) e da AACPD, a partir da razão entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo das análises de variância individuais. Em todas as comparações a relação observada foi inferior a sete, confirmando a homogeneidade dos experimentos, sendo possível a realização da análise de variância conjunta (GOMES, 1990). Os resultados da análise de variância conjunta dos três experimentos demonstraram efeito altamente significativo ($p < 0,01$) da interação linhagem x experimento para a segunda, quarta e sexta avaliação e para a AACPD (Tabela 3). Em função da significância desta interação, optou-se por apresentar os resultados para cada experimento.

Os resultados das análises de variância individual dos experimentos demonstraram efeito altamente significativo ($p < 0,01$) das linhagens para os três períodos de avaliação e para a AACPD (Tabelas 4, 5 e 6). Estas evidências permitem inferir sobre a existência de variabilidade na constituição genética das linhagens endogâmicas de milho, refletindo possivelmente em diferenças na resistência/suscetibilidade à antracnose foliar. Os coeficientes de variação para os três experimentos foram de baixa magnitude, com amplitude de 6,26 à 15,96% (Tabelas 4, 5 e 6). Estes valores são considerados adequados para experimentos à campo envolvendo a interação patógeno-hospedeiro, e corroboram com aqueles obtidos por outros autores neste mesmo patossistema (CARVALHO et al., 2008; COELHO et al., 2001; MATIELLO et al., 2012; REZENDE et al., 2004; TORRECIJA, 2012).

Tabela 3 - Resumo da análise de variância conjunta para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), dos três experimentos de linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays*). Ponta Grossa - PR, 2013.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrado Médio			AACPD
		2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	
Blocos (Experimento)	9	0,23 **	0,57 **	0,36 *	614,34 **
Linhagens	15	2,09 **	3,62 **	8,33 **	39,71 **
Experimentos	2	13,30 **	34,35 **	55,10 **	50813,94 **
Linhagens x Experimentos	30	0,36 **	0,68 **	1,27 **	867,47 **
Resíduo	135	0,09	0,15	0,16	135,32
C.V.(%)		12,14	12,78	10,40	10,07
Média		2,43	2,98	3,88	115,50

*, ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Os resultados do primeiro experimento demonstraram uma maior severidade da antracnose foliar nas linhagens endogâmicas, evidenciada pelas maiores médias independente do período de avaliação ou da área AACPD (Tabelas 4, 5 e 6). Possivelmente a maior intensidade da doença seja o reflexo das elevadas temperaturas e médias pluviométricas ocorridas nesta safra agrícola (Anexo 1 e 2), condições ambientais mais favoráveis ao desenvolvimento/colonização do patógeno nos tecidos do hospedeiro.

As análises de agrupamento de médias (Tabelas 7, 8 e 9), permitiram caracterizar as linhagens de milho quanto à resistência ou suscetibilidade de maneira eficiente nos três experimentos, independente do período de avaliação e da AACPD, uma vez que o isolado utilizado de *C. graminicola* foi patogênico nas linhagens suscetíveis (Figura 1). Além disso, pode ser observado um aumento na severidade da doença nos genótipos suscetíveis conforme foram ocorrendo as avaliações, indicando que as condições ambientais dos três experimentos foram propícias para o progresso da doença.

No primeiro experimento, a análise de agrupamento de médias, para a segunda avaliação, permitiu a separação das dezesseis linhagens endogâmicas de milho em três grupos (Tabela 7). As linhagens L 23-1, L 04-2, L 99-4, L 118-4 e L 87-3 destacaram-se como as mais resistentes ao patógeno, com notas variando de 2 à 2,40. Por outro lado, as maiores severidades da antracnose foliar foram observadas na L 22-1, L 95-1, L 71-1, L 70-4 e L 99-3, com notas médias variando de 3,33 à 3,62 (Tabela 7).

Rezende et al. (2004) estudando o controle genético da resistência de milho à antracnose foliar em quatro cruzamentos contrastantes, avaliaram a severidade da doença aos dezesseis dias após a segunda inoculação, através da mesma escala de notas. Os autores

relataram a ausência de sintomas da antracnose nas linhagens endogâmicas resistentes, sugerindo a presença de um gene de efeito maior envolvido na herança da resistência à esta doença. Por outro lado, as reações das linhagens suscetíveis, no experimento de primeira safra, foram semelhantes às observadas neste experimento, uma vez que as notas variaram de 2,58 à 3,78 nos quatro cruzamentos estudados pelos autores.

Tabela 4 - Resumo da análise de variância das notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), do primeiro experimento de linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays*). Ponta Grossa - PR, 2013.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrado Médio			AACPD
		2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	
Blocos	3	0,17	0,93 **	0,06	932,01 **
Linhagens	15	1,19 **	2,59 **	5,19 **	3663,42 **
Resíduo	45	0,09	0,20	0,09	143,46
C.V.(%)		9,98	11,58	6,25	8,09
Média		2,92	3,81	4,91	148,02

** significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 5 - Resumo da análise de variância das notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), do segundo experimento de linhagens endogâmicas de milho. (*Zea mays*). Ponta Grossa - PR, 2013.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrado Médio			AACPD
		2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	
Blocos	3	0,49 **	0,27 *	0,59	760,38 **
Linhagens	15	1,20 **	1,49 **	1,70 **	2272,48 **
Resíduo	45	0,10	0,09	0,25	152,38
C.V.(%)		15,68	12,41	15,96	12,53
Média		2,02	2,42	3,10	98,56

*, ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 6 - Resumo da análise de variância das notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), do terceiro experimento de linhagens endogâmicas de milho. (*Zea mays*). Ponta Grossa - PR, 2013.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrado Médio			AACPD
		2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	
Blocos	3	0,03	0,52 *	0,42	150,64
Linhagens	15	0,42 **	0,89 **	3,98 **	1172,84 **
Resíduo	45	0,08	0,15	0,15	110,11
C.V.(%)		11,73	14,29	10,65	10,50
Média		2,36	2,72	3,64	99,91

*, ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

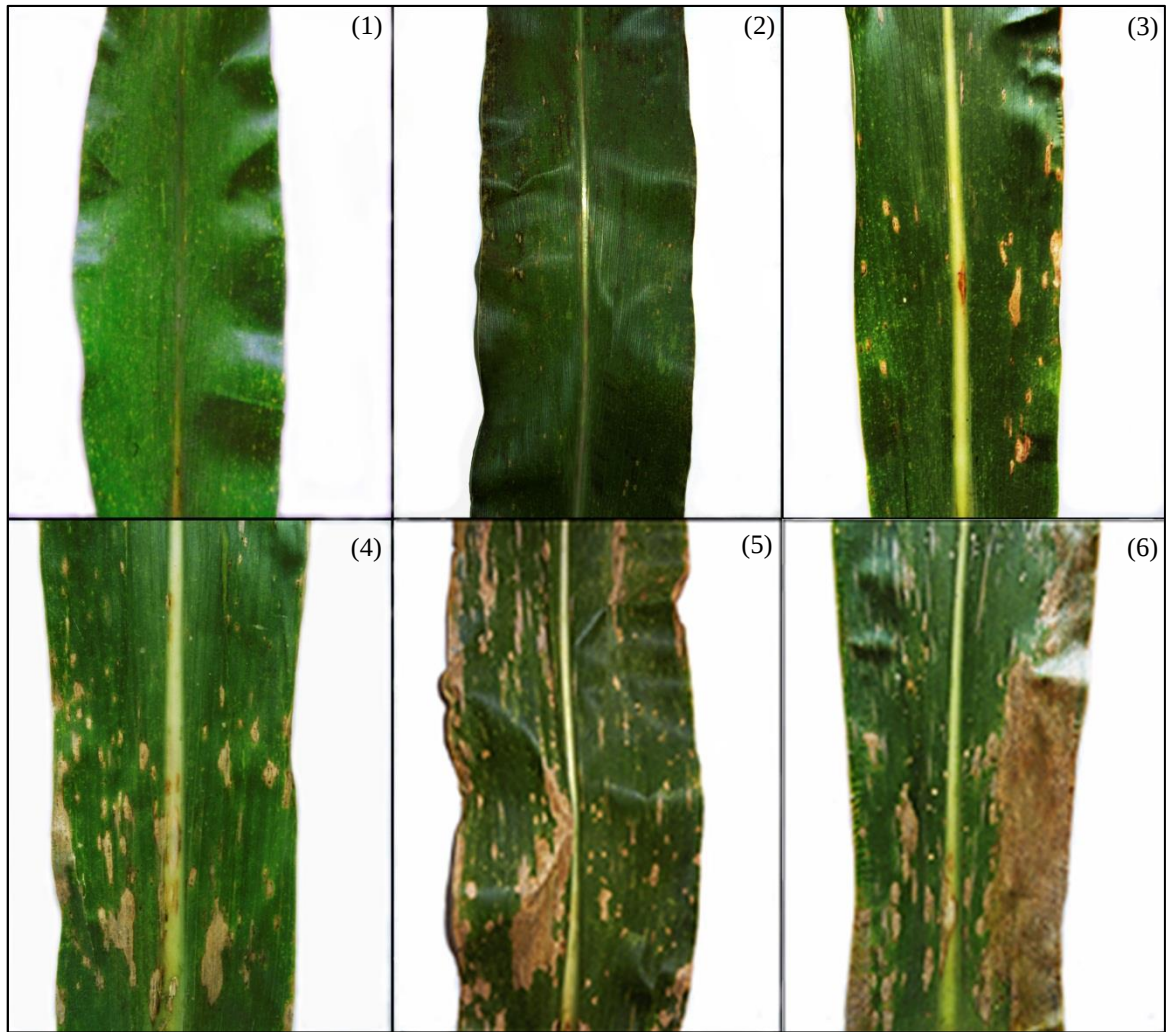


Figura 1 – Visualização da intensidade do sintoma da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*). Representação das notas de escala (1 a 6) observadas à campo para a caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar. Ponta Grossa - PR, 2013.

Para a quarta avaliação, a análise das médias permitiu a classificação das linhagens em quatro grupos estatísticos (Tabela 7). No grupo com os menores valores de severidade da antracnose foliar destacaram-se a L 23-1, L 04-2 e L 99-4, com notas variando de 2,39 à 2,67. As linhagens endogâmicas L 70-2, L 03-2, L 22-1, L 99-3, L 95-1, L 70-4 e L 71-1 apresentaram as maiores notas de escala apresentando de 4,22 à 4,87, médias consideravelmente superiores às observadas na segunda avaliação (Tabela 7).

O teste de agrupamento de médias para a sexta avaliação, permitiu a separação das linhagens endogâmicas em quatro grupos. As linhagens que permaneceram com a maior resistência foram a L 99-4, L 23-1 e L 04-2, com nota máxima de 3,15 (Tabela 7). Nove dos dezesseis genótipos foram classificados no grupo superior, com notas variando de 5,51 (L 03-2) à 5,98 (L 71-1) (Tabela 7), valores intermediários às reações de suscetibilidade (nota 5) à alta suscetibilidade (nota 6) da escala proposta por Silva (1983).

Tabela 7 - Médias das notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o primeiro experimento de linhagens endogâmicas. Ponta Grossa - PR, 2013.

Linhagem	2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	AACPD
L 99-3	3,62 a*	4,54 a	5,89 a	178,16 a
L 70-4	3,46 a	4,69 a	5,90 a	176,47 a
L 71-1	3,45 a	4,87 a	5,98 a	184,17 a
L 95-1	3,40 a	4,68 a	5,84 a	179,35 a
L 22-1	3,33 a	4,47 a	5,57 a	171,84 a
L 03-2	3,17 b	4,26 a	5,51 a	162,20 b
L 70-2	3,14 b	4,22 a	5,90 a	165,60 b
L 141-1	3,13 b	3,94 b	5,89 a	158,81 b
L 129-4	3,11 b	3,71 b	4,62 b	148,98 b
L 71-2	3,07 b	3,96 b	5,72 a	155,96 b
L 118-8	2,95 b	3,59 b	4,43 b	142,07 b
L 87-3	2,40 c	3,10 c	3,98 c	122,13 c
L 118-4	2,28 c	3,40 c	4,19 c	126,30 c
L 99-4	2,22 c	2,67 d	2,94 d	101,78 d
L 04-2	2,04 c	2,53 d	3,15 d	99,40 d
L 23-1	2,00 c	2,39 d	3,06 d	95,16 d

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

A estimativa da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é frequentemente utilizada por evidenciar diferenças na evolução da epidemia entre os genótipos avaliados. No presente trabalho, a análise de agrupamento de médias para os dados da AACPD, no primeiro experimento, possibilitou a separação das linhagens em quatro grupos estatísticos. As linhagens L 23-1, L 04-2 e L 99-4 revelaram valores de AACPD variando de apenas 95,16 à 101,78, sendo consideradas como altamente resistentes devido ao baixo desenvolvimento da doença durante os períodos de avaliação (Tabela 7). Por outro lado, as linhagens L 22-1, L 70-4, L 99-3, L 95-1 e L 71-1, foram as mais suscetíveis, pois apresentaram os maiores índices de AACPD, com amplitude de 171,84 à 184,17 (Tabela 7).

Com o desenvolvimento da antracnose foliar, as linhagens endogâmicas L 70-2 e L 03-2 que apresentaram severidade intermediária na segunda avaliação, passaram a compor o grupo das altamente suscetíveis na quarta avaliação. Da mesma forma, a L 71-2 e L 141-1 que apresentaram suscetibilidade moderada na quarta avaliação foram ranqueadas no grupo superior na sexta avaliação (Tabela 7). Estes resultados evidenciam a existência de diferenças entre as linhagens com relação ao desenvolvimento da doença, comprovando a habilidade de alguns genótipos em retardar o início da epidemia. Do ponto de vista epidemiológico o atraso

no início de uma epidemia é de grande importância, uma vez que possibilita a redução da quantidade de inóculo inicial para as safras subsequentes, principalmente para o *C. graminicola* que sobrevive em resíduos culturais sobre a superfície do solo no período de entressafra (LIPPS, 1983; VIZVARY; WARREN, 1982).

A partir do ranqueamento das linhagens endogâmicas de milho nos períodos de avaliação com a AACPD do primeiro experimento, verifica-se que a quarta avaliação, estágio de desenvolvimento 3 segundo a escala de Fancelli (1986), foi a que mais aproximou-se da AACPD. Neste sentido, pode-se inferir que as avaliações realizadas aos 28 dias após a segunda inoculação, podem apresentar resultados similares aos proporcionados pela AACPD, discriminando de forma semelhante as linhagens endogâmicas de milho para resistência/suscetibilidade à antracnose foliar. Por outro lado, avaliações em períodos muito precoces após a inoculação, como a segunda avaliação, normalmente não refletem a verdadeira caracterização da linhagem (resistente ou suscetível), evidenciado pela nota máxima de escala de apenas 3,62 (Tabela 7).

Comparando os dados da sexta avaliação com a AACPD, percebe-se que um número muito superior de linhagens foi classificado no grupo de maior suscetibilidade na sexta avaliação, não proporcionando ranqueamento equivalente ao obtido pela AACPD. Avaliações tardias de doenças foliares (estádio de grão pastoso) são dificultadas pela possibilidade de superestimativas, seja pela coalescência das lesões com outras doenças ou pela própria senescência natural das folhas da planta. Desta maneira, avaliações da severidade da antracnose foliar realizadas em estádios de desenvolvimento muito avançados, podem comprometer a verdadeira classificação dos genótipos do hospedeiro quanto à reação ao patógeno inoculado.

Destaque positivo deve ser dado às linhagens endogâmicas L 23-1, L 04-2 e L 99-4 as quais apresentaram as menores médias de notas nos três períodos de avaliação e os menores índices de AACPD, refletindo na maior resistência à colonização do patógeno, possivelmente pela presença de genes de resistência à antracnose foliar na constituição genética destas linhagens.

No segundo experimento a segunda avaliação permitiu o agrupamento das linhagens de milho em quatro grupos estatísticos. Com as menores notas destacaram-se a L 04-2, L 118-4 e L 118-8, com amplitude de 1,17 à 1,46 (Tabela 8). Estes resultados foram semelhantes aos observados por Silva (1983) que relatou notas de no máximo 1,33 para as fontes de resistência utilizadas.

A linhagem L 70-2 apresentou a maior severidade de doença, sendo a única ranqueada no grupo superior, com média de 3,29 (Tabela 8). Este resultado é consideravelmente inferior à reação de alta suscetibilidade à antracnose foliar observada por Morello (2000). Avaliando a severidade desta doença, aos quinze dias após a inoculação, os genótipos classificados como altamente suscetíveis apresentaram notas superiores à 5,3. Diferenças consideráveis na nota de escala, possivelmente estejam associadas às melhores condições ambientais (temperatura e umidade) propiciadas pelo ambiente da casa-de-vegetação, reduzindo a influência negativa dos fatores externos sobre o crescimento/desenvolvimento do patógeno nos tecidos do hospedeiro (MORELLO, 2000).

Tabela 8 - Médias das notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o segundo experimento de linhagens endogâmicas. Ponta Grossa - PR, 2013.

Linhagem	2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	AACPD
L 70-2	3,29 a	3,82 a	4,69 a	155,30 a
L 71-2	2,61 b	3,12 b	3,72 b	123,96 b
L 71-1	2,48 b	2,75 b	3,14 b	111,00 b
L 95-1	2,44 b	2,82 b	3,26 b	113,33 b
L 70-4	2,28 b	2,84 b	3,98 a	116,24 b
L 129-4	2,24 b	2,95 b	3,38 b	115,83 b
L 141-1	2,22 b	2,48 b	3,39 b	104,04 b
L 99-3	2,02 c	2,55 b	3,08 b	102,38 b
L 99-4	1,91 c	1,96 c	3,22 b	88,83 c
L 22-1	1,90 c	2,13 c	2,43 c	84,35 c
L 23-1	1,71 c	2,05 c	2,66 c	81,57 c
L 03-2	1,66 c	2,11 c	2,48 c	84,03 c
L 87-3	1,65 c	2,25 c	2,77 c	88,06 c
L 118-8	1,46 d	1,91 c	2,79 c	79,53 c
L 118-4	1,28 d	1,51 d	2,53 c	65,98 d
L 04-2	1,17 d	1,55 d	2,14 c	62,51 d

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

O agrupamento de médias para a quarta avaliação, possibilitou a separação das linhagens em quatro grupos. As linhagens L 118-4 e L 04-2 foram classificadas como altamente resistentes, apresentando notas médias de 1,51 e 1,55, respectivamente (Tabela 8). Similarmente à segunda avaliação, a linhagem L 70-2 foi a única no grupo superior, com maior severidade da doença (3,82) (Tabela 8).

Para a sexta avaliação, a análise das médias separou as linhagens em três grupos estatísticos (Tabela 8). Nesta última avaliação, sete linhagens destacaram-se com as menores intensidades de doença (L 04-2, L 22-1, L 03-2, L 118-4, L 23-1, L 87-3 e L 118-8), com nota máxima de 2,79, correspondendo às reações típicas de genótipos resistentes à moderadamente resistentes na escala proposta por Silva (1983). No grupo das linhagens mais suscetíveis à antracnose foliar confirmaram-se a L 70-4 e a L 70-2, com notas de 3,98 e 4,69, respectivamente (Tabela 8).

Para a AACPD, as linhagens L 04-2 e L 118-4 destacaram-se pela maior resistência, com valores de 62,51 e 65,98, respectivamente, evidenciando o baixo progresso da severidade da antracnose foliar nestas linhagens. Por outro lado, a L 70-2 foi a única linhagem classificada como altamente suscetível, com AACPD cerca de duas vezes superior aos obtidos para as linhagens resistentes (Tabela 8). Estas evidências confirmam a severidade da epidemia sobre a linhagem suscetível, possivelmente pela ausência de genes de resistência à antracnose foliar.

Os resultados apresentados na Tabela 8 permitem realizar a comparação entre o ranqueamento das linhagens endogâmicas proporcionados pelos diferentes períodos de avaliação em relação à AACPD. Observa-se que a classificação das linhagens para os dados da quarta avaliação, não diferem do ranqueamento obtido com a AACPD. Esta constatação confirma a eficiência da avaliação da severidade aos 28 dias após a segunda inoculação, podendo representar de forma eficaz a reação dos genótipos estudados frente à epidemia da doença, tornando o processo de seleção mais rápido e eficiente à campo pelos programas de melhoramento.

Entre as linhagens com menor severidade da doença, destacam-se a L 04-2 e a L 118-4, uma vez que apresentaram as menores notas, independentemente do período de avaliação e da área abaixo da curva de progresso da doença (Tabela 8). A elevada resistência observada nestes genótipos é o reflexo da presença de genes de resistência à antracnose foliar na constituição genética destas linhagens, acarretando no menor desenvolvimento da doença.

No terceiro experimento, as linhagens com maior resistência, foram a L 23-1, L 22-1 e L 04-2, com notas variando de 1,91 à 2,01. No grupo das mais suscetíveis a L 71-2, L 95-1 e L 70-2, apresentaram amplitude de notas de 2,76 à 3,01 (Tabela 9). Para a quarta avaliação, as notas de escala variaram de 2 à 3,6, com formação de apenas dois grupos estatísticos. Nesta avaliação, dez linhagens endogâmicas apresentaram as menores severidades da antracnose foliar, com notas variando de 2 (L 23-1) à 2,73 (L 70-4) (Tabela 9).

Evidencia-se claramente, no terceiro experimento, que a sexta avaliação da antracnose foliar possibilitou uma melhor separação das linhagens de milho com relação à resistência ou suscetibilidade, uma vez que a amplitude das notas médias de escala entre as linhagens foram 2,16 à 5,67 (Tabela 9). Esta tendência de maior amplitude de notas para a sexta avaliação foi muito similar entre os experimentos realizados. Nesta avaliação, sete linhagens destacaram-se com a maior resistência, com notas de escala variando de 2,16 (L 23-1) à 2,88 (L 22-1) (Tabela 9). Por outro lado, novamente a L 70-2 foi a única linhagem ranqueada no grupo superior, com nota média de 5,67 (Tabela 9).

Tabela 9 - Médias das notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o terceiro experimento de linhagens endogâmicas. Ponta Grossa - PR, 2013.

Linhagem	2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	AACPD
L 70-2	3,01 a	3,60 a	5,67 a	134,42 a
L 95-1	2,77 a	3,37 a	4,60 b	121,65 a
L 71-2	2,76 a	3,35 a	4,56 b	120,13 a
L 129-4	2,63 b	3,26 a	4,60 b	117,30 a
L 99-3	2,55 b	2,86 a	3,90 c	106,79 b
L 70-4	2,45 b	2,73 b	4,59 b	106,41 b
L 141-1	2,43 b	2,97 a	4,16 c	107,12 b
L 71-1	2,39 b	2,68 b	3,69 c	100,23 c
L 99-4	2,31 c	2,52 b	2,73 d	91,77 c
L 03-2	2,24 c	2,46 b	3,59 c	92,67 c
L 118-8	2,21 c	2,44 b	2,72 d	89,16 c
L 118-4	2,11 c	2,34 b	2,53 d	84,13 c
L 87-3	2,04 c	2,30 b	3,25 d	85,68 c
L 04-2	2,01 c	2,26 b	2,61 d	82,00 c
L 22-1	1,96 c	2,35 b	2,88 d	84,25 c
L 23-1	1,91 c	2,00 b	2,16 d	74,81 c

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

A importância da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para separar genótipos resistentes dos suscetíveis à determinada doença é inquestionável, uma vez que representa a reação do genótipo frente ao desenvolvimento da epidemia. No presente trabalho, o teste de agrupamento de médias para os valores da AACPD permitiu a classificação das linhagens em três grupos estatísticos. Nove apresentaram os menores valores, os quais variaram de 74,81 (L 23-1) à 100,23 (L 71-1), evidenciando o menor progresso da doença nesses genótipos provavelmente pela presença de genes de resistência à

antracnose foliar. No grupo das linhagens que apresentaram os maiores índices de AACPD e, como consequência, os menores níveis de resistência, foi formado por quatro linhagens, com valores de 117,30 (L 129-4) à 134, 42 (L 70-2) (Tabela 9).

O grande número de genótipos utilizados em programas de melhoramento de milho dificulta a realização de várias avaliações de uma mesma doença, inviabilizando o uso da AACPD para a caracterização da resistência/suscetibilidade. Neste sentido, alguns trabalhos utilizam a análise de correlação entre as avaliações pontuais e a AACPD com o objetivo de identificar a avaliação que melhor represente a reação dos genótipos frente à epidemia da doença. Devido aos altos coeficientes de correlação entre os períodos de avaliação e a AACPD nos três experimentos (Tabela 2), não foi possível inferir de forma precisa, sobre qual o melhor momento para avaliar a antracnose foliar que de fato representaria com fidelidade a área abaixo da curva de progresso da doença. No entanto, com base nos resultados obtidos pela análise de correlação (Tabela 2), pode-se inferir que a avaliação da antracnose foliar em dois ou três períodos, compreendidos entre os 14 e 35 dias após a segunda inoculação, estádios 3 e 6, possam possivelmente fornecer informações mais adequadas, proporcionando uma melhor separação das linhagens resistentes das suscetíveis à antracnose foliar.

A literatura indica que a incidência e a severidade de doenças em vegetais são dependentes de três fatores: hospedeiro, ambiente e patógeno. Neste sentido, as condições climáticas exercem grande influência na interação patógeno x hospedeiro, tanto na resposta de defesa da planta como no desenvolvimento do patógeno. No presente trabalho, foram observadas pequenas variações nas reações das linhagens endogâmicas de milho frente ao desenvolvimento da antracnose foliar nos três experimentos, possivelmente pela presença da interação genótipo x ambiente (EBERHART; RUSSELL, 1966). Da mesma forma, variações no padrão de resistência/suscetibilidade de genótipos de milho em função das diferentes épocas de semeadura, também foram relatadas em outros patossistemas de milho (BRITO et al., 2008; GABRIEL et al., 2012; JULIATTI; SOUZA, 2005; REZENDE et al., 2004; TORRECIJA, 2012).

Foram observadas variações nas reações de resistência/suscetibilidade em alguns genótipos entre os experimentos, apesar disso, as linhagens endogâmicas L 04-2, L 23-1, L 87-3, L 99-4 e L 118-4 destacaram-se pela manutenção do padrão de resistência, apresentando os menores valores de AACPD independente do experimento. Possivelmente estas linhagens possuam genes de resistência mais estáveis frente às variações ambientais existentes entre os experimentos, evidenciando a possibilidade de utilização destas como fontes de resistência à

C. graminicola em programas de melhoramento de milho. Máximo (2013) estudando a herança da resistência de milho à antracnose do colmo utilizou as linhagens endogâmicas L 04-2 e a L 23-1 como fontes de resistência em função dos pequenos valores de comprimento de lesão observados nos colmos destes genótipos. Estas evidências indicam a possibilidade de utilização destas linhagens como fonte de genes de resistência tanto para a antracnose foliar quanto para a podridão do colmo pelos programas de melhoramento de milho.

Destaque adicional para a linhagem L 99-4 que apresentou alta resistência no primeiro e terceiro experimento, e resistência moderada no segundo para os valores de AACPD. Máximo (2013) utilizou esta mesma linhagem como fonte de suscetibilidade para a antracnose do colmo. Uma vez que o isolado de *C. graminicola* foi o mesmo nos dois trabalhos, pode-se inferir sobre a possibilidade de segregação independente dos genes de resistência às duas fases da doença. Evidências da presença de genes diferentes no controle da antracnose foliar e da podridão do colmo foram relatadas por Morello (2000), Lim e White (1978) e Zuber et al. (1981). Zuber et al. (1981), por exemplo, encontraram um grande número de híbridos de milho com alta resistência à antracnose foliar e alta suscetibilidade à podridão do colmo, evidenciando a presença de genes diferentes associados à resistência às duas fases da doença.

As linhagens que apresentaram as maiores notas de escala na sexta avaliação e valores de AACPD foram a L 70-2, L 70-4, L 71-2, L 95-1 e L 99-3. A alta severidade da doença observada nestes genótipos está possivelmente relacionada à ausência de genes de resistência na constituição genética. Estes resultados evidenciam a possibilidade de utilização dessas linhagens como fonte de suscetibilidade em cruzamentos contrastantes para estudos de herança bem como de expressão gênica para resistência neste patossistema.

5.1.1 Estimativas dos parâmetros genéticos associados à resistência

A estimativa dos parâmetros genéticos através dos componentes da variância fenotípica permite conhecer a variabilidade genética presente num conjunto aleatório de genótipos, bem como prever ganhos genéticos com a seleção artificial para determinada característica (VENCOVSKI, 1987). Desta maneira, foram estimados os parâmetros genéticos associados à resistência de milho à antracnose foliar, a partir da avaliação da resistência/suscetibilidade num conjunto de dezesseis linhagens endogâmicas em três experimentos, levando-se em consideração a segunda, a quarta e a sexta avaliação, além da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Tabela 10).

Tabela 10 – Estimativas dos parâmetros genéticos para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), dos três experimentos de linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays*). Ponta Grossa - PR, 2013.

Parâmetros genéticos	1º experimento			
	2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	AACPD
$\hat{\sigma}_g^2$	0,28	0,60	1,28	879,99
$\hat{\sigma}_e^2$	0,08	0,20	0,09	143,46
$\hat{h}_a^2$	93,28	92,28	98,27	96,08
CV_g	18,04	20,29	23,00	20,04
CV_e	9,69	11,74	6,11	8,09
$\hat{b}$	1,86	1,73	3,76	2,48
Parâmetros genéticos	2º experimento			
	2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	AACPD
$\hat{\sigma}_g^2$	0,28	0,35	0,37	530,03
$\hat{\sigma}_e^2$	0,10	0,09	0,24	152,38
$\hat{h}_a^2$	91,67	93,96	85,88	93,29
CV_g	25,96	24,45	19,49	23,36
CV_e	15,65	12,40	15,80	12,52
$\hat{b}$	1,66	1,97	1,23	1,87
Parâmetros genéticos	3º experimento			
	2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7	AACPD
$\hat{\sigma}_g^2$	0,09	0,19	0,96	265,68
$\hat{\sigma}_e^2$	0,08	0,15	0,15	110,11
$\hat{h}_a^2$	80,95	83,15	96,23	90,61
CV_g	12,35	15,81	26,88	16,31
CV_e	11,98	14,24	10,64	10,50
$\hat{b}$	1,03	1,11	2,53	1,55

$\hat{\sigma}_g^2$: variância genética; $\hat{\sigma}_e^2$: variância ambiental; $\hat{h}_a^2$: herdabilidade no sentido amplo; CV_g : coeficiente de variação genética; CV_e : coeficiente de variação ambiental; $\hat{b}$: quociente $\hat{b}$.

Os resultados dos componentes da variância fenotípica indicaram um predomínio da variância genética ($\hat{\sigma}_g^2$) em relação à variância ambiental ($\hat{\sigma}_e^2$), a partir da caracterização da resistência à antracnose foliar no conjunto de linhagens de milho, independente do experimento, do período de avaliação e dos valores da AACPD (Tabela 10). A decomposição da variância fenotípica no componente genético e ambiental, reforça a existência de grande variabilidade genética entre as linhagens estudadas com relação à resistência/suscetibilidade à antracnose foliar, possivelmente associada à presença de genes de resistência em algumas das linhagens endogâmicas.

Os coeficientes de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}^2_a$) foram de grande magnitude, confirmando o predomínio do componente genético associado à resistência à antracnose foliar, independente do experimento e do momento de avaliação da doença. No primeiro experimento, os coeficientes de herdabilidade variaram de 92,28 (quarta) à 98,27% (sexta avaliação). Para o segundo experimento, os coeficientes de herdabilidade mantiveram-se com estimativas superiores à 90%, exceto para a sexta avaliação (85,88%) (Tabela 10). No terceiro experimento, os valores da herdabilidade no sentido amplo demonstraram uma amplitude de 80,95 à 96,23% (Tabela 10).

Os elevados coeficientes de herdabilidade no sentido amplo, evidenciaram a baixa participação do ambiente na composição do fenótipo das linhagens endogâmicas de milho, corroborando com as estimativas de herdabilidade relatadas em trabalhos relacionados à herança da resistência à antracnose foliar em milho (CARSON; HOOKER, 1981a; REZENDE et al., 2004; SILVA, 1983). Elevados coeficientes de herdabilidade no sentido amplo, indicam facilidade no processo de seleção artificial, pela ampla variabilidade genética existente e pelos pequenos efeitos ambientais associados. Adicionalmente, permitem pressupor a existência de poucos genes controlando a resistência de milho à antracnose foliar.

O quociente $\hat{b}$ é um parâmetro genético importante para os programas de melhoramento, pois quantifica a proporção da variabilidade genética dentro das populações, através da relação entre o coeficiente de variação genético CV_g e o coeficiente de variação ambiental CV_e . Os quocientes estimados nos três experimentos evidenciaram a maior contribuição da variância genética em relação à variância ambiental, uma vez que para todas as estimativas o quociente $\hat{b}$ foi maior que 1,0 (Tabela 10). No primeiro experimento, as estimativas de $\hat{b}$ variaram de 1,73 (quarta) à 3,76 (sexta avaliação). No segundo experimento, as estimativas foram de menor magnitude em relação ao primeiro, com amplitude de 1,23 à 1,97. Para o terceiro experimento, os coeficientes variaram de 1,03 à 2,53 (Tabela 10). Estes resultados evidenciam uma situação muito favorável para a seleção de fontes de genes de resistência à antracnose foliar, a partir deste conjunto de linhagens endogâmicas de milho. Destaca-se que todas as estimativas deste parâmetro foram superiores à 1,0, independente do experimento, do momento de avaliação ou da AACPD, o que vem de encontro com as pressuposições de sucesso seletivo apontadas por Vencovsky (1987) e Vencovsky e Barriga (1992).

As estimativas dos parâmetros genéticos para os três experimentos, permitiram confirmar a presença de variabilidade genética no grupo de linhagens endogâmicas estudadas.

Foi possível demonstrar a baixa participação dos efeitos ambientais na expressão da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar, proporcionando elevadas estimativas de herdabilidade no sentido amplo e quociente $\hat{b}$ maior que 1,0. Estes resultados evidenciam uma condição muito favorável para o processo de seleção artificial visando a resistência à antracnose foliar em genótipos de milho. Adicionalmente, permitem hipotetizar que o controle genético da resistência de milho à antracnose foliar, possivelmente esteja associado à um pequeno número de genes com grande contribuição fenotípica para a resistência. Evidentemente, esta pressuposição somente será fortalecida a partir de experimentos que visem estudar o controle genético da resistência a partir de populações segregantes, oriundas de cruzamentos contrastantes entre estas linhagens endogâmicas de milho.

5.2 HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE MILHO À ANTRACNOSE FOLIAR

A avaliação da severidade de doenças foliares em plantas é considerada a forma mais apropriada para a quantificação da doença em todas as culturas (BERGAMIN FILHO, 2011). No entanto, para a antracnose foliar em milho, ainda não há registro na literatura de um método padrão, como uma escala diagramática de severidade ou imagens computadorizadas, que auxiliam na estimativa da porcentagem de área foliar com os sintomas da doença.

Nicholson e Warren (1976) estudaram a eficiência da caracterização da resistência/suscetibilidade de genótipos de milho à antracnose foliar através de três métodos de avaliação: porcentagem da área foliar com sintomas, tamanho e tipo de lesão. Os resultados evidenciaram que a avaliação baseada no tipo de lesão mostrou-se mais eficiente na discriminação da resistência/suscetibilidade nos diferentes genótipos de milho. Da mesma forma, Morello (2000) comparou a eficácia da avaliação da antracnose foliar em milho através de diferentes metodologias: escala de notas proposta por Silva (1983), número de lesões por folhas, área total de lesão, área média de lesão, comprimento total e médio de lesão. O autor concluiu que o número médio de lesões não foi um bom parâmetro para a avaliação da antracnose foliar em milho, pois com o aumento da severidade da doença em genótipos suscetíveis ocorreu a coalescência das lesões e a redução do número de lesões, subestimando a verdadeira severidade da doença. Adicionalmente, observou alta relação entre o comprimento e a área total de lesão com a escala de notas (SILVA, 1983), a qual baseia-se na reação do hospedeiro à antracnose foliar através do tipo de lesão.

A escala de notas baseada no tipo de lesão proposta por Silva (1983) tem apresentado eficácia na caracterização da resistência/suscetibilidade à antracnose foliar em milho

(MORELLO, 2000; REZENDE et al. 2004). A avaliação da doença em um determinado estágio fenológico da cultura representa a reação do genótipo somente naquele momento. Quando são realizadas várias avaliações em diferentes estádios de desenvolvimento da cultura, é possível estimar a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Na literatura não são encontrados trabalhos que utilizaram a AACPD para a caracterização da resistência/suscetibilidade em gerações segregantes de milho. Os indivíduos que compõem estas gerações apresentam constituições genéticas únicas, as quais podem resultar em expressões fenóticas de resistência/suscetibilidade muito diferenciadas, tornando inviável o cálculo da AACPD para cada indivíduo de uma população segregante. Neste trabalho, optou-se inicialmente pelo cálculo da AACPD somente para as linhagens endogâmicas envolvidas nos cruzamentos estudados (L_R 04-2, L_R 23-1, L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1), com a finalidade de verificar qual das seis avaliações pontuais da antracnose foliar poderia estar mais associada aos dados da AACPD.

Os resultados da análise de correlação dos experimentos indicaram coeficientes altos, positivos e altamente significativos ($p < 0,01$) entre as seis avaliações e a AACPD (Tabela 11). Os coeficientes de correlação foram todos superiores à 0,97, dificultando a escolha da melhor avaliação pontual para representar a AACPD. Neste sentido, optou-se por estudar a herança da resistência à antracnose foliar neste conjunto de famílias utilizando os dados da segunda avaliação, de modo a representar a reação das gerações segregantes no início do desenvolvimento da cultura; da quarta avaliação, objetivando caracterizar a reação de resistência/suscetibilidade num momento intermediário do desenvolvimento da epidemia e da sexta avaliação, para confirmar a reação dos indivíduos das populações segregantes à *C. graminicola* num estágio mais avançado de desenvolvimento do hospedeiro e da epidemia da doença.

Inicialmente foi testada a homocedasticidade das variâncias residuais dos experimentos, a partir da razão entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo das análises de variância individuais, para a segunda, quarta e sexta avaliação. Uma vez que os valores obtidos nestas relações foram inferiores a sete, foi confirmada a homogeneidade das variâncias residuais dos experimentos, sendo possível realizar a análise conjunta (GOMES, 1990). Como os resultados da análise conjunta dos experimentos demonstraram efeito altamente significativo ($p < 0,01$) das interações experimento x famílias e experimento x gerações (famílias) (dados não apresentados), optou-se neste trabalho pela apresentação dos resultados para cada experimento.

Tabela 11 – Coeficientes de correlação entre as seis avaliações da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), das linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays*) utilizadas nos cruzamentos, para os dois experimentos de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Avaliações/Estádio Fenológico	1º experimento	2º experimento
	AACPD	AACPD
1ª/2	0,99 **	0,98 **
2ª/3	0,99 **	0,99 **
3ª/4	0,99 **	0,99 **
4ª/5	0,99 **	0,99 **
5ª/6	0,99 **	0,99 **
6ª/7	0,98 **	0,99 **

** significativo a 1% de probabilidade.

Os resultados da análise de variância do primeiro experimento demonstraram efeito altamente significativo ($p < 0,01$) para as famílias apenas para a sexta avaliação, possivelmente reflexo do maior coeficiente de variação experimental da segunda e quarta avaliação. Por outro lado, para a fonte gerações (famílias) a análise demonstrou significância ($p < 0,01$) para os três períodos de avaliação da antracnose foliar (Tabela 12). No segundo experimento, os resultados da análise indicaram efeito significativo tanto para famílias quanto para gerações (famílias) nos três períodos de avaliação da doença (Tabela 13). Estas diferenças estatísticas observadas entre as famílias possivelmente sejam o reflexo da combinação das linhagens endogâmicas resistentes (L_R 04-2 e L_R 23-1) com as suscetíveis (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1) utilizadas para a obtenção das famílias segregantes.

Os coeficientes de variação experimental (parcela e subparcela) oscilaram de 11,69 à 25,10% no primeiro experimento (Tabela 12) e de 8,82 à 15,12% no segundo experimento (Tabelas 13). Considerando-se que a avaliação de doenças em plantas através da utilização de escalas diagramáticas e escala de notas está sujeita a erros (LOPES, 2003), estes valores podem ser considerados de baixa magnitude, concordando com outros trabalhos do mesmo patossistema (CARVALHO et al., 2008; COÊLHO et al., 2001; MATIELLO et al., 2012; MAXIMO, 2013; REZENDE et al., 2004; TORRECIJA 2012). Os baixos coeficientes de variação obtidos nos experimentos possivelmente são decorrentes da utilização de dois avaliadores para a obtenção de uma nota consenso na avaliação da resistência/suscetibilidade dos indivíduos, minimizando os possíveis erros de interpretação de escala, resultando na maior precisão na coleta dos dados fenotípicos.

Observou-se uma maior severidade da antracnose foliar no segundo experimento, fato comprovado pelas maiores médias da escala, independente do período de avaliação

(Tabelas 12 e 13). Possivelmente, as condições ambientais de temperatura e umidade proporcionadas pela segunda época de semeadura (segundo experimento) foram mais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, refletindo na maior severidade da doença (Anexo 1 e 2).

Tabela 12 - Resumo da análise de variância para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*), no primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrado Médio		
		2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7
Blocos	2	1,16 **	0,65	0,25
Famílias	5	0,44	0,35	2,18 **
Resíduo (a)	10	0,13	0,27	0,17
Gerações (Famílias)	30	1,20 **	1,29 **	2,32 **
Resíduo (b)	60	0,05	0,70	0,11
CV parcela (%)		20,87	25,10	14,33
CV subparcela (%)		12,91	12,85	11,69
Média		1,75	2,08	2,86

** significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 13 - Resumo da análise de variância para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*), no segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrado Médio		
		2ª avaliação/ Estádio 3	4ª avaliação/ Estádio 5	6ª avaliação/ Estádio 7
Blocos	2	0,26 *	0,53 *	0,22
Famílias	5	0,39 **	0,67 **	1,35 **
Resíduo (a)	10	0,04	0,07	0,07
Gerações (Famílias)	30	0,90 **	1,59 **	3,89 **
Resíduo (b)	60	0,07	0,13	0,08
CV parcela (%)		8,93	11,12	8,87
CV subparcela (%)		12,30	15,12	8,82
Média		2,17	2,42	3,02

*, ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Os resultados referentes à caracterização da resistência/suscetibilidade das diferentes famílias e gerações (famílias) confirmaram a patogenicidade do isolado de *C. graminicola*, pelas altas notas da antracnose foliar observadas principalmente nas linhagens suscetíveis (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1), independente do experimento (Tabelas 14 e 15). Adicionalmente,

confirmou-se a existência de contraste fenotípico entre as linhagens endogâmicas de milho utilizadas nos cruzamentos com relação à reação de resistência/suscetibilidade à antracnose foliar (Tabelas 14 e 15). Em estudos que visam entender a herança genética de um caráter, é de extrema importância a utilização de parentais contrastantes nos cruzamentos que originarão as famílias segregantes a serem estudadas. Quanto maior a divergência genética entre os parentais mais precisa será a estimativa da contribuição efetiva dos alelos de cada genitor para as gerações filiais e de segregação (SILVEIRA et al., 2008).

No primeiro experimento, as notas médias de escala para as linhagens endogâmicas (L_R 04-2 e L_R 23-1) confirmaram o alto padrão de resistência à antracnose foliar, fato atribuído à presença de genes de resistência na constituição genética destas linhagens. Embora tenha ocorrido um incremento nas notas médias de escala para as linhagens resistentes nos períodos de avaliação, a fonte de resistência L_R 04-2 manteve-se na sexta avaliação com amplitude de notas de 1,80 (L_R 04-2 x L_S 70-2) à 2,13 (L_R 04-2 x L_S 95-1) e a fonte L_R 23-1 de 2,17 (L_R 23-1 x L_S 71-1) à 2,26 (L_R 23-1 x L_S 70-2), evidenciando o padrão de resistência destas linhagens para a antracnose foliar (Tabela 14).

Para o conjunto de linhagens suscetíveis (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1) as médias foram estatisticamente superiores às fontes de resistência em todas as famílias e períodos de avaliação (Tabela 14). Para a segunda avaliação as notas médias de escala variaram de 2,32 (L_S 71-1) à 3,47 (L_S 70-2). Para a quarta avaliação foi observado um leve acréscimo na intensidade da doença, com notas médias de escala oscilando de 2,67 (L_S 71-1) à 3,83 (L_S 70-2). Embora a análise das médias tenha possibilitado separar o contraste fenotípico entre as linhagens parentais de cada família, as linhagens L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1 nesta avaliação seriam classificadas como moderadamente suscetíveis pela escala de notas proposta por Silva (1983). Neste sentido, pode-se inferir que a avaliação aos 28 dias após a segunda inoculação (quarta avaliação) tenha sido muito precoce, pois não permitiu o desenvolvimento dos sintomas característicos de suscetibilidade à antracnose foliar nestas linhagens. Para a sexta avaliação, as notas médias de escala dos genótipos suscetíveis evidenciaram um significativo incremento na severidade, destacando-se com a maior suscetibilidade a linhagem L_S 70-2, com notas de 5,26 à 5,68 (Tabela 14). Por outro lado, a L_S 71-1 e a L_S 95-1 demonstraram maior contraste fenotípico com as linhagens resistentes (Tabela 14), possivelmente devido à ausência de genes de resistência à antracnose foliar na constituição genética desses genótipos. Nos programas de melhoramento que visam a resistência à doenças, o maior interesse na seleção de genótipos com maior número de alelos favoráveis está em identificar genitores que possuam alta capacidade de transmitir os genes de resistência para as gerações filiais

(SILVEIRA et al., 2008). Neste sentido, é de extrema importância a avaliação do desempenho fenotípico da geração F_1 , uma vez que resulta da contribuição de 50% dos alelos de cada parental utilizado no cruzamento. No primeiro experimento, independente do período de avaliação, o desempenho médio dos seis híbridos das respectivas famílias tendeu para a maior resistência, com notas médias de escala estatisticamente superiores às linhagens endogâmicas utilizadas como fonte de resistência à *C. graminicola*. Nas primeiras avaliações (segunda e quarta), as notas médias de escala da geração F_1 foram numericamente muito próximas das linhagens resistentes, possivelmente pela baixa severidade da doença nestes períodos de avaliação, fato também confirmado pelo baixo contraste fenotípico entre as linhagens endogâmicas parentais neste momento (Tabela 14). Para a sexta avaliação, embora o teste de médias tenha agrupado as gerações F_1 's com as respectivas fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1), percebe-se uma tendência das médias desta geração (F_1 's) para um posicionamento intermediário entre as gerações parentais de cada cruzamento (Tabela 14). De maneira geral, desempenho fenotípico intermediário da geração F_1 em relação às linhagens parentais é indicativo do predomínio da ação gênica aditiva no controle genético de um caráter (RAMALHO et al., 2012).

A caracterização da resistência/suscetibilidade das seis gerações F_2 's à antracnose foliar evidenciou tendência para o desempenho intermediário em relação às linhagens parentais utilizadas nos respectivos cruzamentos (Tabela 14). Para a maioria das famílias estudadas, os resultados do teste de médias ranquearam as gerações F_2 's junto com as linhagens parentais utilizadas como fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1). De acordo com o esperado, a severidade da antracnose foliar foi incrementada nos indivíduos suscetíveis ao longo dos períodos de avaliação, aumentando as notas médias de escala das seis gerações F_2 's na sexta avaliação, com amplitude 2,51 (L_R 04-2 x L_S 71-1) à 3,42 (L_R 23-1 x L_S 70-2) (Tabela 14). De maneira geral, a geração F_2 das famílias obtidas dos cruzamentos com as linhagens suscetíveis L_S 70-2 e L_S 95-1 apresentaram severidade da antracnose foliar mais acentuada, possivelmente pela maior porcentagem de indivíduos nas classes mais suscetíveis dentro das respectivas gerações de segregação (Figuras 2 e 3).

As gerações de retrocruzamento (RC_1 e RC_2) correspondem ao cruzamento obtido da geração F_1 com o parental resistente (L_R) ou suscetível (L_S) de cada família, respectivamente. Para o primeiro experimento, os resultados da caracterização fenotípica da segunda, quarta e sexta avaliação, não evidenciaram diferenças com relação à resistência à antracnose foliar entre as gerações RC_1 e RC_2 na maioria das famílias estudadas. Particularmente,

Tabela 14 - Efeito do desdobramento das médias das gerações (L_R, L_S, F₁, F₂, RC₁ e RC₂) nas respectivas famílias, para as notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*), do primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Gerações	2ª avaliação/Estádio 3					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
L _R	1,23 d*	1,20 b	1,13 b	1,36 b	1,19 c	1,42 c d
L _S	3,47 a	2,66 a	2,82 a	3,40 a	2,32 a	2,67 a
F ₁	1,35 c d	1,36 b	1,30 b	1,28 b	1,20 c	1,12 d
F ₂	2,04 b	1,59 b	1,61 b	1,79 b	1,68 b c	2,04 b
RC ₁	1,82 b c	1,55 b	1,48 b	1,56 b	1,42 b c	1,44 c d
RC ₂	2,10 b	1,58 b	1,33 b	1,81 b	1,85 a b	1,92 b c

Gerações	4ª avaliação/Estádio 5					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
L _R	1,38 d	1,35 b	1,54 b	1,65 b c	1,55 c	1,76 c d
L _S	3,83 a	2,84 a	3,24 a	3,68 a	2,67 a	2,84 a
F ₁	1,58 d	1,74 b	1,42 b	1,50 c	1,56 c	1,57 d
F ₂	2,23 b c	1,88 b	1,90 b	1,98 b c	2,03 b c	2,47 a b
RC ₁	1,89 c d	1,64 b	1,89 b	1,70 b c	1,87 b c	2,00 b c d
RC ₂	2,79 b	1,98 b	1,88 b	2,17 b	2,37 a b	2,38 a b c

Gerações	6ª avaliação/Estádio 7					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
L _R	1,80 d	1,85 b	2,13 b	2,26 c	2,17 b	2,22 c
L _S	5,26 a	2,96 a	4,14 a	5,68 a	3,01 a	4,25 a
F ₁	2,26 d	2,20 a b	2,52 b	2,59 c	2,09 b	2,03 c
F ₂	3,17 b c	2,51 a b	2,79 b	3,42 b	2,52 a b	3,30 b
RC ₁	2,44 c d	2,58 a b	2,48 b	2,56 c	2,40 a b	2,53 b c
RC ₂	3,65 b	2,82 a	2,67 b	3,80 b	2,85 a b	3,17 b

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

¹ L_R: linhagem resistente. L_S: linhagem suscetível. F₁: geração híbrida originada do cruzamento da linhagem resistente com a suscetível. F₂: geração originada pela autofecundação da geração F₁. RC₁: retrocruzamento envolvendo o parental resistente. RC₂: retrocruzamento envolvendo o parental suscetível.

contrastefenotípico entre as gerações RC's foi demonstrado na quarta avaliação somente para a família L_R 04-2 x L_S 70-2 e na sexta avaliação nas famílias L_R 04-2 x L_S 70-2 e L_R 23-1 x L_S 70-2 (Tabela 14). De maneira geral, as médias fenotípicas das seis gerações RC_1 's foram de baixa magnitude e na maioria das vezes estatisticamente similares à linhagem endogâmica utilizada como fonte de resistência para a família (Tabela 14). O desempenho similar das RC_1 's em relação à fonte de resistência (L_R) é considerado clássico para esta geração de segregação, resultado da maior proporção de alelos oriundos da fonte de resistência nesta geração de segregação, corroborando com os resultados relatados em outros trabalhos neste mesmo patossistema (CARSON; HOOKER, 1981a; CARSON; HOOKER, 1981b; MATIELLO et al., 2012; MÁXIMO, 2013; REZENDE et al., 2004; SILVA, 1983).

Para as gerações RC_2 's (F_1 x L_S) espera-se padrão fenotípico com tendência para a maior suscetibilidade, uma vez que esta geração de segregação é oriunda da maior proporção de alelos das linhagens suscetíveis. Apesar da baixa severidade da antracnose foliar observada nestas gerações (RC_2 's) nas primeiras avaliações (segunda e quarta), as notas médias de escala foram intermediárias àquelas obtidas para os parentais envolvidos nos cruzamentos, visualizados para as famílias L_R 04-2 x L_S 70-2 e L_R 23-1 x L_S 71-1 na segunda avaliação e para as famílias L_R 04-2 x L_S 70-2, L_R 23-1 x L_S 71-1 e L_R 04-2 x L_S 95-1 na quarta. Na sexta avaliação, as RC_2 's das famílias L_R 04-2 x L_S 70-2 e L_R 23-1 x L_S 70-2 evidenciaram desempenho fenotípico clássico esperado para as gerações de retrocruzamento envolvendo o parental suscetível (Tabela 14).

No segundo experimento, as notas médias de escala encontradas para as linhagens resistentes (L_R 04-2 e L_R 23-1) foram levemente superiores àquelas obtidas no primeiro experimento, independente do período de avaliação (Tabela 15). Ainda assim, ficou evidente o elevado padrão de resistência destas linhagens, visto que as médias foram de no máximo 1,70, 1,84 e 2,22 para a segunda, quarta e sexta avaliação, respectivamente (Tabela 15). Coêlho et al. (2001) e Rezende et al. (2004) estudando o controle genético da antracnose foliar em milho, não relataram presença de sintomas da doença nas linhagens utilizadas como fonte de resistência. Embora as médias de escala obtidas nos dois experimentos tenham sido superiores às observadas por estes autores, estão de acordo com as relatadas por Silva (1983) para as linhagens resistentes, com notas de escala variando de 1,08 à 1,33. Neste sentido, devido à baixa magnitude das notas de escala observadas para a L_R 04-2 e L_R 23-1, nos dois experimentos, confirma-se a possibilidade de utilização destas linhagens endogâmicas como fontes de genes de resistência à antracnose foliar pelos programas de melhoramento de milho.

Para as linhagens suscetíveis (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1), as médias na segunda avaliação variaram de 2,47 à 3,46 (Tabela 15). Estes valores foram inferiores aos relatados para as linhagens suscetíveis utilizadas nos trabalhos de Morello (2000), Rezende et al. (2004) e Silva (1983). Estes autores avaliaram a severidade da antracnose foliar em milho aproximadamente aos quinze dias após a segunda inoculação e observaram para as linhagens suscetíveis valores de escala superiores à 4,4. Esta divergência de severidade para as linhagens suscetíveis era esperada devido às diferenças climáticas existentes entre os ambientes de avaliação (Cravinhos/Jacarezinho - SP e Ponta Grossa - PR). Os municípios de Cravinhos e Jacarezinho (SP) apresentam temperatura e umidade relativa mais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, resultando na maior severidade da antracnose foliar. Na quarta avaliação, observou-se um aumento considerável nas notas médias de escala para a maioria das linhagens suscetíveis, com amplitude de 2,70 à 4,53. Severidade mais expressiva da antracnose foliar foi observada na sexta avaliação, com notas médias de escala variando de 3,91 à 5,98 (Tabela 15).

Embora os dados da segunda avaliação tenham sido similares nos dois experimentos, observou-se que para a quarta e sexta avaliação as médias de escala foram consideravelmente superiores no segundo experimento. Esta maior severidade da antracnose foliar, provavelmente esteja relacionada às condições ambientais proporcionadas pelo cultivo de segunda safra, com temperatura e umidade relativa mais propícias ao desenvolvimento e colonização do patógeno nos tecidos do hospedeiro. Entre as linhagens suscetíveis (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1), o menor contraste com as fontes de resistência foi observado para a L_S 71-1. Esta linhagem endogâmica não apresentou reação superior à classe moderadamente suscetível (nota 4) nos dois experimentos, mesmo após a sexta avaliação da doença (Tabelas 14 e 15). O maior contraste em relação as linhagens resistentes foi demonstrado para a L_S 70-2, a qual apresentou as maiores notas de escala independente do experimento e do período de avaliação, possivelmente pela ausência de genes de resistência à antracnose foliar nesta linhagem.

Para a geração F_1 das seis famílias, as notas médias de escala da segunda avaliação variaram de 1,79 à 2,22. Para a quarta avaliação observou-se um ligeiro progresso da doença, com amplitude de 1,93 à 2,54 (Tabela 15). Evidencia-se para estes dois períodos de avaliação que as médias da geração F_1 do cruzamento L_R 04-2 x L_S 71-1, não diferiram estatisticamente das duas linhagens parentais envolvidas no cruzamento, provavelmente pelo reduzido contraste fenotípico existente entre as linhagens com relação à resistência à antracnose foliar.

Tabela 15 - Efeito do desdobramento das médias das gerações (L_R, L_S, F₁, F₂, RC₁ e RC₂) nas respectivas famílias, para as notas de escala da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*), do segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Gerações	2ª avaliação/Estádio 3					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
L _R	1,70 c	1,57 c	1,68 c	1,27 d	1,50 c	1,32 c
L _S	3,46 a	2,47 a	2,86 a	3,30 a	2,88 a	2,83 a
F ₁	2,16 b c	1,88 a b c	2,22 b c	1,79 c d	1,83 b c	1,83 b c
F ₂	2,53 b	2,10 a b c	2,17 b c	2,09 b c	2,01 b c	2,47 a b
RC ₁	2,14 b c	1,78 b c	1,78 b c	1,89 c d	1,64 c	1,82 c
RC ₂	2,61 b	2,29 a b	2,37 a b	2,72 a b	2,43 a b	2,65 a

Gerações	4ª avaliação/Estádio 5					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
L _R	1,84 c	1,62 b	1,80 c	1,46 d	1,63 c	1,44 c
L _S	4,05 a	2,70 a	3,43 a	4,53 a	3,32 a	3,38 a
F ₁	2,54 b c	2,08 a b	2,28 b c	2,00 c d	2,00 b c	1,93 b c
F ₂	2,64 b c	2,20 a b	2,44 b c	2,35 b c	2,16 b c	2,64 a b
RC ₁	2,22 b c	1,90 a b	1,93 b c	2,07 c d	1,96 b c	1,94 b c
RC ₂	2,76 b	2,44 a b	2,73 a b	3,14 b	2,64 a b	2,94 a

Gerações	6ª avaliação/Estádio 7					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
L _R	2,00 d	1,72 d	2,22 d	1,80 d	1,78 c	1,74 c
L _S	5,78 a	4,04 a	4,91 a	5,98 a	3,91 a	4,68 a
F ₁	3,06 c	2,73 b c	3,19 b c	2,34 c d	2,49 b	2,33 c
F ₂	3,04 c	2,56 b c	2,77 c d	2,67 c	2,56 b	3,66 b
RC ₁	2,43 c d	2,13 c d	2,31 d	2,18 c d	2,23 b c	2,12 c
RC ₂	4,20 b	3,03 b	3,46 b	3,53 b	3,28 a	3,81 b

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

¹ L_R: linhagem resistente. L_S: linhagem suscetível. F₁: geração híbrida originada do cruzamento da linhagem resistente com a suscetível. F₂: geração originada pela autofecundação da geração F₁. RC₁: retrocruzamento envolvendo o parental resistente. RC₂: retrocruzamento envolvendo o parental suscetível.

Para as demais famílias, as médias da geração híbrida (F_1) tenderam para a maior resistência, não diferindo estatisticamente da linhagem resistente. Estes resultados confirmam o elevado potencial genético das linhagens L_R 04-2 e L_R 23-1 de transmitir os genes de resistência à antracnose foliar para as gerações filiais. Da mesma forma, outros autores relataram tendência da geração F_1 para maior resistência à antracnose foliar, em famílias oriundas do cruzamento entre parentais contrastantes (CARSON; HOOKER, 1981a; COELHO et al., 2001; LIM; WHITE, 1978; REZENDE et al., 2004; SILVA, 1983). Acréscimo mais acentuado nas médias da geração F_1 foi observado para os dados da sexta avaliação, com amplitude de notas de 2,33 à 3,19 (Tabela 15). Para as famílias L_R 23-1 x L_S 70-2 e L_R 23-1 x L_S 95-1 as médias das gerações filiais (F_1 's) foram semelhantes ao genitor resistente (L_R 23-1). Nas demais famílias, as médias da geração F_1 foram estatisticamente superiores às linhagens utilizadas como fonte de resistência (Tabela 15), indicando a presença de efeitos genéticos aditivos no controle da resistência à antracnose foliar em milho.

Para a geração de máxima segregação (F_2), as notas de escala da segunda avaliação variaram de 2,01 à 2,53, semelhantes aquelas observadas na quarta avaliação, com amplitude de 2,16 à 2,64 (Tabela 15). Percebe-se um acréscimo das médias de escala para a sexta avaliação, com valores oscilando de 2,56 à 3,66 (Tabela 15). De maneira geral, em média a geração F_2 de cada família evidenciou desempenho fenotípico intermediário em relação aos parentais, independente do período de avaliação da doença. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Silva (1983). Por outro lado, Rezende et al. (2004) relataram que as médias da geração F_2 das quatro famílias estudadas tenderam para o parental resistente, evidenciando predomínio da ação gênica de dominância no controle genético da resistência de milho à antracnose foliar.

Para a geração RC_1 , os dados da segunda avaliação apresentaram-se semelhantes aos da quarta, com notas variando de 1,64 à 2,14 e de 1,90 à 2,22, respectivamente (Tabela 15). Ao longo da epidemia da doença, houve um leve acréscimo nas notas de escala para a sexta avaliação, com amplitude de 2,12 à 2,43 (Tabela 15). Observou-se que independente do período de avaliação da doença, as médias da geração RC_1 foram semelhantes às aquelas obtidas para as linhagens resistentes (L_R 04-2 e L_R 23-1), confirmando o potencial destas fontes de resistência em manter o padrão de resistência esperado para esta geração de segregação.

Para a RC_2 , as notas médias de escala da segunda avaliação variaram de 2,29 à 2,72. Para a quarta avaliação, houve um acréscimo na severidade da doença, com amplitude de 2,44 à 3,14 (Tabela 15). Incremento mais expressivo na severidade da antracnose foliar foi observada na sexta avaliação, com notas de escala variando de 3,03 à 4,20. Em todas as

famílias, independente do período de avaliação, a geração RC₂ foi intermediária ao desempenho médio das linhagens endogâmicas parentais, com tendência para a maior suscetibilidade. Estes resultados são considerados clássicos para a geração de retrocruzamento que envolve o genitor suscetível, devido à maior concentração de alelos de suscetibilidade nesta geração de segregação. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por outros autores para o controle genético da antracnose foliar (REZENDE et al., 2004; SILVA, 1983) e do colmo (MÁXIMO, 2013; MATIELLO et al., 2012).

Para visualizar o padrão de segregação da geração F₂ são apresentados os gráficos de distribuição de frequência (%) de todos os indivíduos de cada família (F₂) na sexta avaliação dos dois experimentos. As notas da escala foram utilizadas para a definição das classes fenotípicas dos gráficos de distribuição de frequência (Figuras 2 e 3). O padrão de segregação para as seis famílias, evidenciou uma tendência de distribuição simétrica entre as classes fenotípicas da escala de notas, de forma semelhante à uma curva de distribuição normal, principalmente para as famílias que envolveram as linhagens suscetíveis L_S 70-2 e L_S 95-1 (Figuras 2 e 3). A ausência de simetria perfeita nos gráficos de distribuição de frequência pode estar associada ao efeito ambiental na expressão da resistência/suscetibilidade dos indivíduos, possibilidade de erros dos avaliadores na fenotipagem, tamanho da população F₂ avaliada e a possibilidade de ação gênica de dominância no controle genético da resistência em algumas famílias. A tendência de distribuição simétrica dos indivíduos nas respectivas classes para a maioria das famílias é um indicativo de predomínio da ação gênica aditiva no controle genético da resistência à antracnose foliar nestas famílias.

A análise de distribuição de frequência evidenciou o mesmo padrão de distribuição para as famílias que envolveram a linhagem suscetível L_S 70-2, independente da fonte de resistência utilizada (L_R 04-2 e L_R 23-1) (Figuras 2A e 3A). Da mesma forma, para as famílias que envolveram a linhagem suscetível L_S 71-1 (Figuras 2B e 3B). Particularmente, quando a linhagem L_S 71-1 está envolvida nos cruzamentos, a grande maioria dos indivíduos da geração F₂ encontra-se nas classes fenotípicas de maior resistência (1, 2 e 3), com frequência total destas classes de 90,9% na família L_R 04-2 x L_S 71-1 e de 88,6% na família L_R 23-1 x L_S 71-1 (Figuras 2B e 3B). Possivelmente, a L_S 71-1 possua alelos de resistência à antracnose foliar na sua constituição genética, resultando na suscetibilidade moderada desta linhagem. Esta hipótese é válida uma vez que Matiello (2004), através do mapeamento molecular de genes de resistência à antracnose do colmo em milho, localizou alelos de resistência no genitor suscetível e alelos de suscetibilidade no genitor resistente. Neste sentido, a combinação dos alelos de resistência das fontes L_R 04-2 e L_R 23-1 com os possíveis

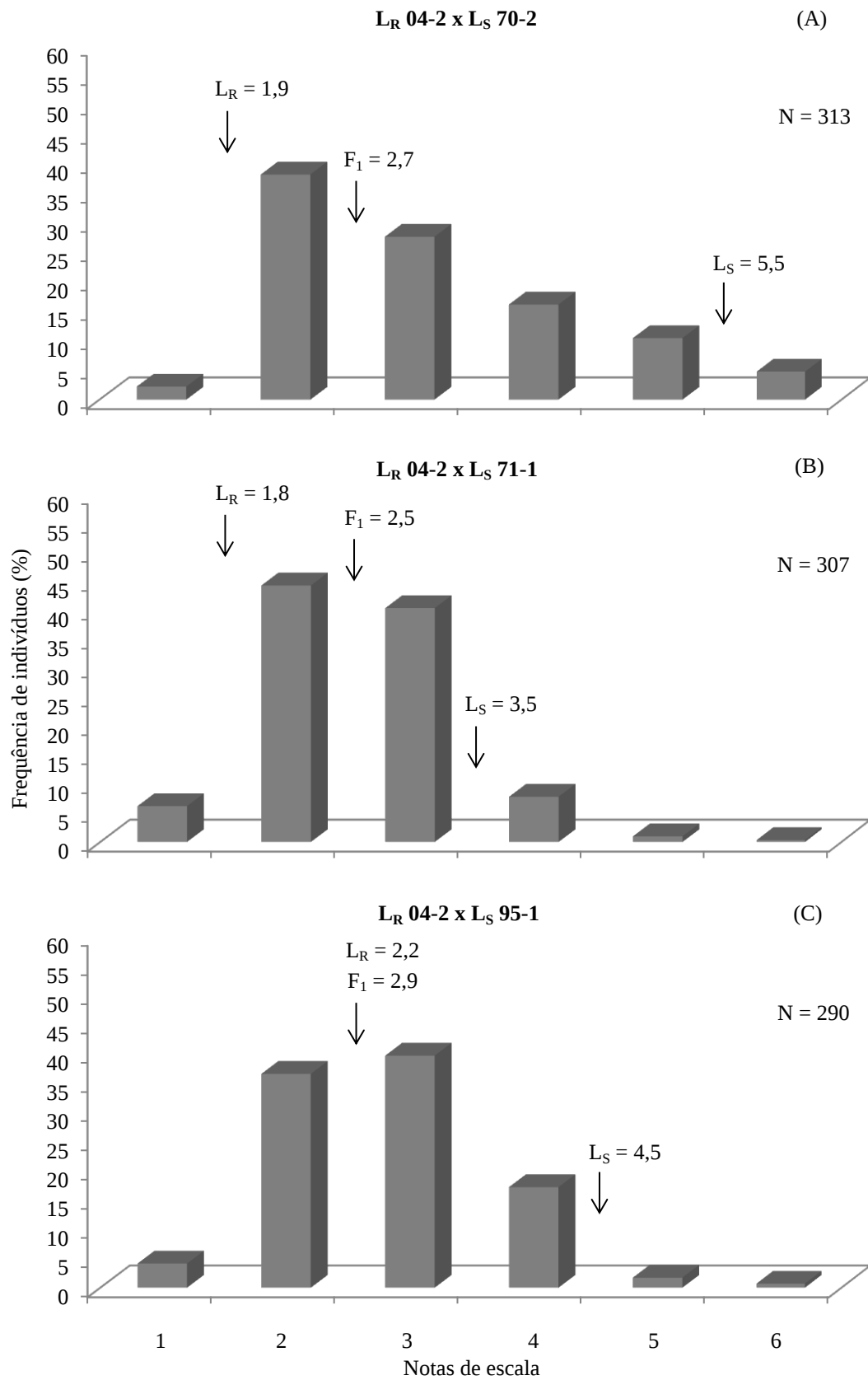


Figura 2 – Distribuição de frequência (%) dos indivíduos da geração F₂ em cada classe de notas da sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) nas famílias: (A) L_R 04-2 x L_S 70-2, (B) L_R 04-2 x L_S 71-1 e (C) L_R 04-2 x L_S 95-1, nos experimentos de herança. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F₁ = geração filial (L_R x L_S) e N = número total de indivíduos da geração F₂. Ponta Grossa - PR, 2013.

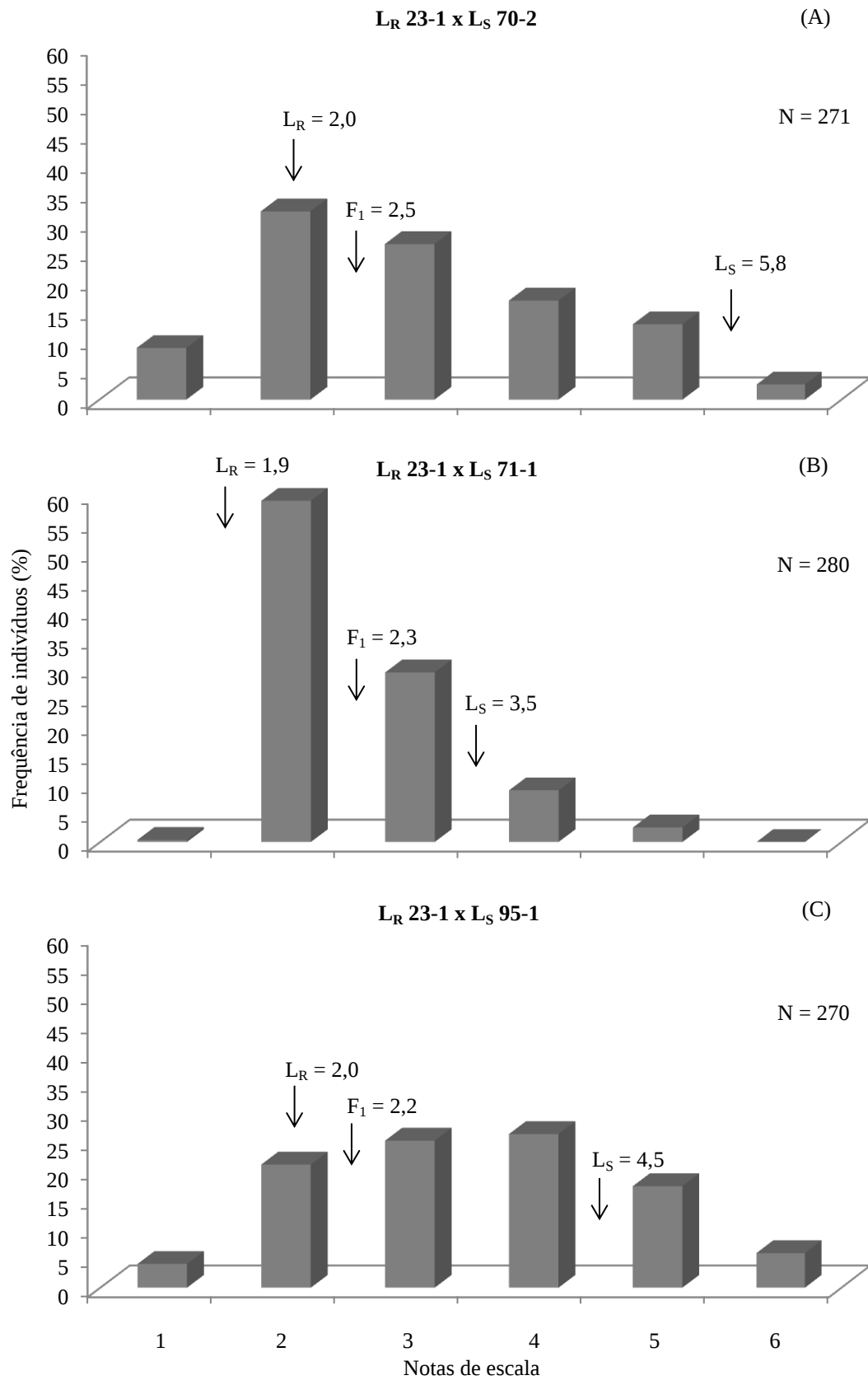


Figura 3 – Distribuição de frequência (%) dos indivíduos da geração F₂ em cada classe de notas da sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) nas famílias: (A) L_R 23-1 x L_S 70-2, (B) L_R 23-1 x L_S 71-1 e (C) L_R 23-1 x L_S 95-1, nos experimentos de herança. L_R = linhagem resistente, L_S = linhagem suscetível, F₁ = geração filial (L_R x L_S) e N = número total de indivíduos da geração F₂. Ponta Grossa - PR, 2013.

alelos de resistência presentes na linhagem L_S 71-1, seja o principal fator responsável pela maior frequência de indivíduos da geração F₂ nas classes mais resistentes destas famílias (Figuras 2 - B e 3 - B).

Os resultados da análise de distribuição de frequência dos indivíduos da geração F₂ das seis famílias estudadas permitiram confirmar o potencial genético das linhagens endogâmicas L_R 04-2 e L_R 23-1 utilizadas como fontes para a transferência dos genes de resistência à antracnose foliar nas gerações de segregação independente da linhagem endogâmica suscetível utilizada no cruzamento (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1). Neste sentido, a combinação das fontes de resistência e de suscetibilidade através de cruzamentos artificiais possibilitou o desenvolvimento de populações segregantes com potencial fenotípico para a seleção artificial pelos programas de melhoramento, bem como para estudos clássicos de herança, mapeamento molecular de genes e experimentos de expressão gênica da resistência.

Silva (1983) estudando a herança da resistência à antracnose foliar obteve resultados semelhantes, sendo que a maioria dos indivíduos da geração F₂ apresentaram notas de escala de 1 à 3. Por outro lado, Rezende et al. (2004) relataram que em todos os experimentos, a maioria dos indivíduos da geração F₂ foi altamente resistente, indicando predomínio da ação gênica de dominância no controle genético da resistência de milho à antracnose foliar. Para a herança da resistência à antracnose do colmo, Máximo (2013) observou maior número de indivíduos da geração F₂ na mesma classe fenotípica das linhagens resistentes. O autor utilizou as mesmas fontes de resistência empregadas no presente estudo (L_R 04-2 e L_R 23-1), confirmando o alto potencial destas linhagens endogâmicas como fontes de genes de resistência à antracnose foliar e de colmo para os programas de melhoramento.

Os resultados deste trabalho permitiram confirmar a eficiência da escala de notas utilizadas para caracterizar resistência/suscetibilidade nas famílias e gerações estudadas. As análises das médias (notas de escala) permitiram comprovar o alto padrão de resistência das linhagens L_R 04-2 e L_R 23-1, bem como o contraste fenotípico para as linhagens suscetíveis L_S 70-2 e L_S 95-1. De maneira geral, as fontes de resistência utilizadas nos cruzamentos possibilitaram a redução da severidade da antracnose foliar tanto para as gerações F₁'s quanto para as RC₁'s das respectivas famílias.

5.2.1 Estimativas dos parâmetros genéticos associados à herança da resistência

A estimativa dos parâmetros genéticos associados à herança da resistência à doenças em populações segregantes é de fundamental importância para os programas de

melhoramento vegetal. Estes parâmetros permitem direcionar os esforços para a incorporação de genes de resistência à doenças em germoplasmas suscetíveis, bem como auxiliar na escolha do método de seleção a ser utilizado. No presente trabalho as médias das gerações foram analisadas segundo o modelo reduzido de Mather e Jinks (1971), com o intuito de conhecer a variabilidade genética das populações e determinar o padrão de herança e a ação gênica envolvida na resistência de milho à antracnose foliar.

Os resultados relativos à porcentagem de variação explicada pelos efeitos genéticos aditivos, dominantes e desvios do modelo nas seis famílias são apresentados nas Tabelas 16 e 17. No primeiro experimento, os resultados da análise genética para os dados da segunda avaliação, demonstraram a maior contribuição dos efeitos genéticos aditivos no controle da resistência à antracnose foliar, com valores percentuais altamente significativos variando de 60,71 à 78,93% (Tabela 16). Neste período de avaliação, a análise também evidenciou efeitos genéticos significativos de dominância para a resistência, com percentuais de 20,82 à 35,6%. Adicionalmente, apenas na família L_R 04-2 x L_S 95-1, verificou-se a contribuição significativa dos desvios do modelo genético aditivo-dominante, sugerindo a presença de interação gênica, embora de baixa magnitude (Tabela 16). Para a quarta e sexta avaliação, os efeitos genéticos associados à resistência à antracnose foliar evidenciaram maior contribuição dos efeitos aditivos para o controle da resistência, com amplitude de 60,07 à 89,64% e de 70,01 à 88,16%, respectivamente (Tabela 16). Por outro lado, ação gênica de dominância, possivelmente associada às fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1) também foi visualizada para algumas famílias (Tabela 16).

O sucesso com a seleção artificial depende, basicamente, do grau de correspondência entre o valor fenotípico e o valor genotípico. Neste sentido, a herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, ou seja, quantifica a confiabilidade do valor fenotípico correlacionado ao valor genotípico total (ROSSMAN, 2001). No primeiro experimento, os coeficientes de herdabilidade no sentido amplo para a segunda avaliação, variaram de 46,09 (L_R 04-1 x L_S 71-1) à 81,21% (L_R 04-2 x L_S 70-2) (Tabela 17). Para as famílias oriundas da fonte de resistência L_R 23-1, os coeficientes estimados foram superiores a 60% (Tabela 17). Para a quarta avaliação, os coeficientes de herdabilidade ($\hat{h}_a^2$) apresentaram pequenas alterações entre as famílias estudadas, mantendo praticamente a mesma amplitude da segunda avaliação (Tabela 17). Incremento mais expressivo foi evidenciado para todas as famílias na sexta avaliação, com

Tabela 16 – Porcentagem da variação para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) explicada pelos efeitos genéticos aditivos, dominantes e desvios do modelo para cada família do primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Efeitos	2ª avaliação/Estádio 3					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
Aditivos	75,24 **	73,62 **	66,32 **	64,98 **	78,93 **	60,71 **
Dominantes	21,31 **	20,82 *	24,00 **	32,06 **	19,21	35,60 **
Desvios	3,45	5,56	9,68 **	2,96	1,86	3,70
Efeitos	4ª avaliação/Estádio 5					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
Aditivos	83,08 **	89,64 **	60,07 **	65,18 **	80,26 **	65,68 **
Dominantes	15,99 **	8,30	34,87 **	33,31 **	16,25	26,39
Desvios	0,93	2,06	5,06	1,51	3,49	7,93
Efeitos	6ª avaliação/Estádio 7					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
Aditivos	85,86 **	88,16 *	80,22 **	82,24 **	74,94 *	70,01 **
Dominantes	13,40 **	0,86	14,62	17,23 **	19,69	25,95 **
Desvios	0,74	10,98	5,16	0,53	5,36	4,04

*, ** significativo à 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 17 – Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) e número de genes de resistência à antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação para cada família do primeiro experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Estimativas	2ª avaliação/Estádio 3					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	81,21	46,09	77,09	66,43	62,23	64,62
$\hat{h}_r^2$ (%)	54,26	37,58	62,44	45,96	49,33	56,17
$\hat{H}$	- 1,04	- 0,58	- 0,72	- 1,08	- 0,60	- 0,91
$\hat{H}$ (%)	- 44,37	- 29,71	- 35,86	- 45,81	- 33,16	- 44,70
Nº genes	2,26	8,71	3,11	3,62	2,22	2,79
Estimativas	4ª avaliação/Estádio 5					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	76,19	53,46	59,53	65,34	52,55	72,66
$\hat{h}_r^2$ (%)	65,64	26,99	41,04	57,56	48,16	56,83
$\hat{H}$	- 1,09	- 0,34	- 0,96	- 1,14	- 0,56	- 0,75
$\hat{H}$ (%)	- 41,99	- 15,96	- 40,60	- 43,20	- 26,50	- 32,33
Nº genes	1,71	7,97	4,31	4,97	7,61	3,17
Estimativas	6ª avaliação/Estádio 7					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	87,70	75,86	70,66	86,69	74,29	83,29
$\hat{h}_r^2$ (%)	72,87	31,66	64,29	59,68	53,22	51,29
$\hat{H}$	- 1,33	- 0,16	- 0,58	- 1,39	- 0,51	- 1,18
$\hat{H}$ (%)	- 37,39	- 6,94	- 18,36	- 34,86	- 19,68	- 36,78
Nº genes	3,06	18,44	3,87	3,35	3,75	5,92

amplitude de 70,66 na família L_R 04-2 x L_S 95-1 à 87,7% na L_R 04-2 x L_S 70-2 (Tabela 17). Semelhantemente, Carson e Hooker (1981a) e Rezende et al. (2004) observaram altos valores de herdabilidade no sentido amplo para a herança da resistência à antracnose foliar em milho, relatando coeficientes de herdabilidade superiores à 84%. Máximo (2013) estudando resistência genética de milho à antracnose do colmo em famílias constituídas por linhagens utilizadas no presente trabalho (L_R 04-2, L_R 23-1, L_S 71-1 e L_S 95-1), encontrou para a grande maioria das famílias elevadas estimativas de herdabilidade no sentido amplo, com coeficientes superiores à 80%, independente da forma de avaliação da doença nos colmos, comprimento interno de lesão, comprimento externo de lesão e número de internódios descoloridos.

A estimativa da herdabilidade no sentido restrito ($\hat{h}_r^2$) é expressa pela proporção da variância genética aditiva em relação à variância fenotípica total. Este parâmetro possibilita estimar o ganho efetivo no processo de seleção, visto que os efeitos aditivos contribuem de forma mais eficiente quando se busca incrementar a frequência dos alelos favoráveis numa população sob efeito da seleção. No primeiro experimento, os coeficientes de herdabilidade no sentido restrito para a segunda e quarta avaliação foram semelhantes, com estimativas variando de 37,68 à 62,44% e de 26,99 à 65,64%, respectivamente. Para a sexta avaliação, houve um incremento nos coeficientes, com amplitude de 31,66 à 72,87% (Tabela 17).

O emprego de linhagens endogâmicas nos programas de melhoramento de milho está associado à obtenção do vigor híbrido ou heterose. A heterose representa a superioridade da geração F_1 em relação ao desempenho médio das linhagens parentais do cruzamento. No primeiro experimento, as estimativas da heterose ($\hat{H}$) evidenciaram valores negativos, variando de - 0,16 à - 1,39 entre as famílias e períodos de avaliação (Tabela 17). Observa-se que quando a linhagem L_S 70-2 estava envolvida nos cruzamentos, as linhagens utilizadas como fontes de resistência foram capazes de reduzir cerca de um grau na escala de notas, evidenciando a importância da utilização de parentais fenotipicamente contrastantes para o desenvolvimento de híbridos superiores. Da mesma forma, para a heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) os coeficientes estimados foram altos e negativos, com amplitude de - 6,94 na família L_R 04-2 x L_S 71-1 à - 45,81% na família L_R 23-1 x L_S 70-2 (Tabela 17). Estes resultados confirmam o potencial genético das linhagens L_R 04-2 e L_R 23-1 em transmitir os genes de resistência para as gerações filiais, resultando em híbridos mais resistentes à antracnose foliar, independente da família ou do período de avaliação da antracnose foliar.

A estimativa do número de genes é utilizada nos programas de melhoramento para auxiliar o melhorista na escolha do melhor método de seleção a ser utilizado. A estimativa do número de genes efetivos para resistência à antracnose foliar nas seis famílias do primeiro experimento, evidenciou para a maioria delas um pequeno número de genes de resistência independente do período de avaliação (segunda, quarta ou sexta) e da fonte de resistência utilizada (L_R 04-2 e L_R 23-1). De maneira geral, o número mínimo de genes de resistência estimado variou de 2,22 à 8,71 na segunda, de 1,71 à 7,97 na quarta e de 3,06 à 5,92 na sexta avaliação. Os resultados evidenciaram uma possível superestimativa do número de alelos de resistência para a família L_R 04-2 x L_S 71-1, principalmente para a sexta avaliação onde foi estimado 18,44 genes. Algumas hipóteses poderiam ser levantadas para esta família, como o baixo contraste fenotípico existente entre as linhagens parentais e a possibilidade da presença de alelos de resistência à antracnose foliar na constituição genética da linhagem L_S 71-1, refletindo na superestimativa do número de genes de resistência observados para esta família nos três períodos de avaliação da doença (Tabela 17).

Os resultados deste experimento, independente da família e do período de avaliação da doença, indicam que o controle genético da resistência condicionado pelas linhagens endogâmicas L_R 04-2 e L_R 23-1 esteja sob efeito de um pequeno número de genes, ou seja, herança oligogênica. Este padrão de herança da resistência sugere facilidade no processo de seleção artificial dentro das populações segregantes em função da redução do número de genótipos possíveis para os alelos de resistência, bem como pelo menor efeito do ambiente na expressão fenotípica da resistência entre os indivíduos de uma população segregante. Deve-se destacar que o número efetivo de genes de resistência (n) pode ser estimado por várias fórmulas disponíveis na literatura e que a utilização destas metodologias pressupõe uma série de exigências genéticas associadas às linhagens parentais do cruzamento, o que na prática normalmente não são atendidas na integralidade de seus pressupostos (CRUZ; REGAZZI, 1997; LOBO; GIORDANO; LOPES, 2005).

Para o segundo experimento, os resultados da análise genética evidenciaram contribuição dos efeitos genéticos aditivos para todas as famílias estudadas (Tabela 18). O componente genético aditivo explicou a maior parte da variância genética da resistência nas seis famílias analisadas nos três períodos de avaliação, com amplitude de 91,81 à 98,01% na segunda, 87,60 à 99,39% na quarta e de 81,92 à 97,66% na sexta avaliação. Para a segunda avaliação não se constatou efeitos significativos para os desvios de dominância. De fato, desvios de dominância significativos foram observados apenas para a família L_R 23-1 x L_S 70-2 na quarta avaliação e para os cruzamentos L_R 04-2 x L_S 70-2, L_R 23-1 x L_S 70-2 e L_R

Tabela 18 - Porcentagem da variação para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) explicada pelos efeitos genéticos aditivos, dominantes e desvios do modelo para cada família do segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Efeitos	2ª avaliação/Estádio 3					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
Aditivos	91,81 **	97,48 **	98,01 **	93,69 **	93,28 **	94,70 **
Dominantes	6,52	1,33	0,74	5,00	6,60	0,61
Desvios	1,67	1,18	1,25	1,31	0,12	4,68
Efeitos	4ª avaliação/Estádio 5					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
Aditivos	91,51 **	99,39 *	94,16 **	87,60 **	91,17 **	93,83 **
Dominantes	6,02	0,37	5,50	11,68 *	8,39	3,73
Desvios	2,47	0,24	0,34	0,72	0,44	2,44
Efeitos	6ª avaliação/Estádio 7					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
Aditivos	93,08 **	97,66 **	92,18 **	81,92 **	96,83 **	90,75 **
Dominantes	6,41 **	1,26	4,83	16,96 **	2,87	6,08 *
Desvios	0,51	1,08	3,00	1,12	0,30	3,17 *

*, ** significativo à 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

23-1 x L_S 95-1 na sexta avaliação, com contribuição máxima de 16,96% (Tabela 18). Desvio do modelo genético aditivo-dominante foi observado apenas para a família L_R 23-1 x L_S 95-1 (3,17%) na sexta avaliação, sugerindo a presença de interação gênica no controle da resistência à antracnose foliar nesta família (Tabela 18).

Os resultados obtidos nos dois experimentos indicaram que os efeitos genéticos aditivos foram mais importantes para a determinação da resistência à antracnose foliar nas seis famílias para os três períodos de avaliação da doença. O predomínio da ação gênica aditiva no controle de determinada característica indica facilidade na identificação e seleção de genótipos superiores. Por possibilitar através da seleção artificial maior concentração de alelos favoráveis nas gerações subsequentes, a presença de efeitos aditivos permite incrementar os ganhos genéticos com a seleção de genótipos resistentes. Os resultados do presente trabalho estão de acordo com outros estudos visando entender a herança da resistência de milho à antracnose foliar, os quais relataram predomínio dos efeitos genéticos aditivos para a resistência (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987b; CARSON; HOOKER, 1981a; LIM; WHITE, 1978; REZENDE et al., 2004; SILVA, 1983).

Carson e Hooker (1981a) enfatizam que a utilização do modelo reduzido no estudo das médias das gerações pode ser limitante para detectar outros tipos de ação gênica, como as interações epistáticas. Silva et al. (2001) estudando o controle genético da herança de milho à ferrugem polissora (*P. polysora*), observou efeitos significativos dos desvios do modelo aditivo-dominante, atribuindo esses desvios à possibilidade de interações não alélicas dos genes de resistência e à ausência de uma escala diagramática adequada para a avaliação da resistência à ferrugem polissora.

O segundo experimento foi instalado em condição de cultivo safrinha, com maior umidade relativa e elevada temperatura, possivelmente propiciando condições ambientais mais propícias para o desenvolvimento/crescimento da doença. De maneira geral, a caracterização da resistência/suscetibilidade das famílias/gerações foi mais apropriada, refletindo numa maior coerência da ação gênica nas diferentes famílias independente do período de avaliação. Destaca-se neste experimento a maior contribuição da variância genética aditiva para a resistência à antracnose foliar. Possivelmente, as alterações observadas para uma mesma família nos três períodos de avaliação no primeiro experimento, reforçam a participação da interação genótipo x ambiente na expressão da resistência por meio das contribuições diferenciadas dos efeitos genéticos aditivos e/ou desvios de dominância. Em ambientes desfavoráveis ao desenvolvimento do patógeno, pode ocorrer uma estimativa enviesada da contribuição dos efeitos dominantes. Além disto, os ganhos

esperados com a seleção podem ser reduzidos em função da baixa precisão na avaliação de genótipos realmente resistentes ao patógeno. Neste sentido, a repetibilidade no padrão de herança e na ação gênica envolvida na resistência é fundamental para o sucesso dos programas de melhoramento que visam resistência à doenças.

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo do segundo experimento foram muito semelhantes ao primeiro. Da mesma maneira, os coeficientes de herdabilidade ($\hat{h}_a^2$) referentes à segunda e quarta avaliação foram bastante similares entre si, com estimativas variando de 55,81 à 77,97% e de 51,58 à 84,80%, respectivamente (Tabela 19). Os elevados coeficientes de herdabilidade no sentido amplo para os dois experimentos, indicam facilidade no processo de seleção artificial, devido à ampla variabilidade genética existente nas populações segregantes da geração F_2 para a resistência/suscetibilidade, bem como pequenos efeitos ambientais associados à expressão da resistência à antracnose foliar.

Para a herdabilidade no sentido restrito ($\hat{h}_r^2$) os coeficientes do segundo experimento demonstraram um sensível incremento para a maioria das seis famílias nos períodos de avaliação, quando comparados àqueles estimados para o primeiro experimento. Para a segunda avaliação, os coeficientes variaram entre as famílias numa amplitude de 47,66 (L_R 23-1 x L_S 71-1) à 74,94% (L_R 04-2 x L_S 70-2). Para a quarta avaliação, a análise evidenciou menor amplitude, com coeficientes de 44,35 à 68,97%. Para a sexta avaliação, observou-se um incremento bastante considerável nas estimativas para todas as famílias, variando de 51,51 (L_R 04-2 x L_S 71-1) à 87,05% (L_R 23-1 x L_S 95-1) (Tabela 19). Os altos coeficientes de herdabilidade no sentido restrito para os dois experimentos, sugerem que grande parte da variabilidade genética associada à resistência deve-se à ação aditiva dos genes, indicando que a seleção para a resistência de milho à antracnose foliar poderia ser bastante efetiva desde as primeiras gerações de segregação (F_2 's).

A estimativa da heterose ($\hat{H}$) evidenciou redução no valor das notas de escala de todas as seis gerações F_1 's em relação à média das linhagens parentais (L_R e L_S). Os valores estimados da heterose sempre foram negativos em todas as famílias e períodos de avaliação da doença. Neste experimento, a heterose ($\hat{H}$) variou de - 0,04 (L_R 04-2 x L_S 95-1) à - 1,55 (L_R 23-1 x L_S 70-2) (Tabela 19). As duas linhagens resistentes (L_R 04-2 e L_R 23-1), evidenciaram reduções consideráveis no valor da escala, para as respectivas gerações F_1 's. Da mesma forma, para a heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$), as estimativas foram altas e negativas para todas as famílias independente do período de avaliação. De maneira geral, as estimativas de

Tabela 19 – Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}_{\%}$) e número de genes de resistência à antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) para as notas da segunda, quarta e sexta avaliação para cada família do segundo experimento de herança. Ponta Grossa - PR, 2013.

Estimativas	2ª avaliação/Estádio 3					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	77,97	61,59	59,09	69,45	55,81	70,70
$\hat{h}_r^2$ (%)	74,94	58,79	53,91	61,85	47,66	55,92
$\hat{H}$	- 0,41	- 0,15	- 0,04	- 0,49	- 0,37	- 0,31
$\hat{H}$ (%)	- 15,93	- 7,53	- 1,86	- 21,55	- 17,05	- 14,77
Nº genes	2,76	2,89	3,74	2,69	4,02	2,78
Estimativas	4ª avaliação/Estádio 5					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	84,80	60,62	74,40	72,51	51,58	71,01
$\hat{h}_r^2$ (%)	66,99	47,76	67,13	68,97	44,35	53,05
$\hat{H}$	- 0,42	- 0,08	- 0,33	- 0,97	- 0,52	- 0,52
$\hat{H}$ (%)	- 14,09	- 3,87	- 12,72	- 32,75	- 20,52	- 21,68
Nº genes	3,31	3,79	4,73	3,11	5,32	2,42
Estimativas	6ª avaliação/Estádio 7					
	L _R 04-2 x L _S 70-2	L _R 04-2 x L _S 71-1	L _R 04-2 x L _S 95-1	L _R 23-1 x L _S 70-2	L _R 23-1 x L _S 71-1	L _R 23-1 x L _S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	88,12	70,97	77,29	87,79	70,50	90,93
$\hat{h}_r^2$ (%)	72,17	51,51	67,42	76,35	64,35	87,05
$\hat{H}$	- 0,84	- 0,11	- 0,36	- 1,55	- 0,35	- 0,96
$\hat{H}$ (%)	- 21,49	- 3,77	- 10,25	- 39,93	- 12,35	- 29,77
Nº genes	2,76	5,46	5,92	1,88	5,11	1,67

heterose ($\hat{H}$ e $\hat{H}_{\%}$) foram maiores nas famílias onde a linhagem suscetível L_S 70-2 estava envolvida, seguida da L_S 95-1 e L_S 71-1, reforçando a importância da utilização de cruzamentos mais contrastantes quando objetiva-se entender a herança de um caráter (Tabela 19).

O número de genes condicionando a resistência foi semelhante entre as famílias estudadas, com estimativas de 1,67 à 5,32 entre os períodos de avaliação. As estimativas encontradas nos dois experimentos permitem inferir sobre o controle oligogênico da resistência à antracnose foliar neste conjunto de famílias, corroborando com os trabalhos de outros autores (BADU-APRAKU; GRACEN; BERGSTROM, 1987b; CARSON; HOOKER, 1981a; LIM; WHITE, 1978; SILVA, 1983). Por outro lado, Coêlho et al. (2001) relataram resistência monogênica com dominância completa para o alelo que confere resistência à antracnose foliar. Embora, estes autores só avaliaram a ausência ou presença dos sintomas da doença nos indivíduos da população segregante, impossibilitando, uma comparação adequada com experimentos que quantificam a severidade da doença. Rezende et al. (2004) propuseram um modelo de herança mista para explicar a resistência à antracnose foliar em milho. Demonstraram a presença de um gene de grande efeito, bem como de poligenes no controle genético da resistência, além da presença de efeitos aditivos e dominantes nos quatro cruzamentos estudados. Destacaram que a presença de um gene de grande efeito nas populações segregantes seria o responsável pela maior frequência dos indivíduos das gerações F_2 's ranqueados nas classes mais resistentes da escala de notas.

Para visualizar o desempenho *per se* das linhagens endogâmicas (resistentes e suscetíveis) em relação ao controle genético da resistência à antracnose foliar em milho são apresentados na Tabela 20, as estimativas médias dos parâmetros genéticos para cada linhagem endogâmica resistente (L_R 04-2 e L_R 23-1) e suscetível (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1) para os dois experimentos, independente do período de avaliação da doença. Embora os coeficientes de herdabilidade no sentido amplo tenham variado entre as seis famílias nas respectivas avaliações pontuais da doença (Tabelas 17 e 19), demonstra-se que em média este coeficiente foi muito similar para as famílias oriundas da fonte de resistência L_R 04-2 ($\hat{h}_a^2 = 65,75/72,76$) e daquelas oriundas da L_R 23-1 ($\hat{h}_a^2 = 69,79/71,14$) nos dois experimentos, respectivamente (Tabela 20).

Da mesma forma, para a herdabilidade no sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), não houve diferenças marcantes nos coeficientes estimados para as duas fontes de resistência L_R 04-2 ($\hat{h}_r^2 = 50,75/62,29$) e L_R 23-1 ($\hat{h}_r^2 = 53,13/62,17$), confirmando o potencial genético destas

linhagens em transmitir os genes de resistência para as respectivas famílias de segregação (Tabela 20). Por outro lado, quando leva-se em consideração as fontes de suscetibilidade (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1) para estimar os coeficientes médios de herdabilidade no sentido amplo e restrito, percebe-se que os coeficientes foram mais elevados e similares para as linhagens suscetíveis L_S 70-2 e L_S 95-1 do que para a L_S 71-1, possivelmente pela baixa suscetibilidade desta linhagem observada à campo (Tabela 20).

Tabela 20 – Estimativas médias do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e sentido restrito ($\hat{h}_r^2$), heterose ($\hat{H}$), heterose percentual ($\hat{H}\%$) e número de genes de resistência para cada linhagem endogâmica independente do período de avaliação da antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*) nos dois experimentos. Ponta Grossa - PR, 2013.

Estimativas	1º experimento				
	Linhagens Resistentes		Linhagens Suscetíveis		
	L_R 04-2	L_R 23-1	L_S 70-2	L_S 71-1	L_S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	69,75	69,79	77,26	60,75	71,31
$\hat{h}_r^2$ (%)	50,75	53,13	59,33	41,16	55,34
$\hat{H}$	- 0,76	- 0,90	- 1,18	- 0,46	- 0,85
$\hat{H}$ (%)	- 30,13	- 35,22	- 41,27	- 21,99	- 34,77
Nº genes	5,94	4,16	3,16	8,12	3,86
Estimativas	2º experimento				
	Linhagens Resistentes		Linhagens Suscetíveis		
	L_R 04-2	L_R 23-1	L_S 70-2	L_S 71-1	L_S 95-1
$\hat{h}_a^2$ (%)	72,76	71,14	80,11	61,85	73,90
$\hat{h}_r^2$ (%)	62,29	62,17	70,21	52,40	64,08
$\hat{H}$	- 0,30	- 0,67	- 0,78	- 0,26	- 0,42
$\hat{H}$ (%)	- 10,17	- 23,37	- 24,29	- 10,85	- 15,18
Nº genes	3,93	3,22	2,75	4,43	3,54

Os coeficientes de heterose ($\hat{H}$ e $\hat{H}\%$) fornecem informações importantes com relação ao potencial genético das fontes de resistência utilizadas nos cruzamentos em conferir resistência às gerações filiais. Em média a fonte de resistência L_R 23-1 foi muito mais efetiva na redução da severidade da antracnose foliar nas gerações filiais do que a linhagem L_R 04-2 nos dois experimentos (Tabela 20). Das linhagens suscetíveis, a L_S 70-2 combinada com as fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1), evidenciou a maior heterose para as respectivas gerações filiais, seguida da L_S 95-1 e da L_S 71-1 (Tabela 20). Destaca-se para esta estimativa a importância de utilizar a combinação de linhagens contrastantes no cruzamento, visando incrementar os valores da heterose e por consequência reduzir a severidade da antracnose foliar nas gerações F_1 's.

Para a estimativa do número de genes ou blocos gênicos, observa-se uma redução dos valores do primeiro para o segundo experimento, possivelmente devido às diferenças climáticas observadas entre os experimentos (Tabela 20). Em média o número de genes de resistência foi semelhante entre as linhagens resistentes (L_R 04-2 e L_R 23-1), sendo confirmado também quando observa-se as famílias geradas pelas linhagens suscetíveis L_S 70-2 e L_S 95-1 nos dois experimentos (Tabela 20). A superestimativa do número de genes para os cruzamentos que envolveram a L_S 71-1 confirma o baixo contraste fenotípico desta em relação às linhagens resistentes utilizadas nos cruzamentos (L_R 04-2 e L_R 23-1).

A escala de notas utilizada (SILVA, 1983) foi eficiente para discriminar a resistência/suscetibilidade nas diferentes gerações das seis famílias estudadas. Os resultados dos testes de médias evidenciaram o contraste fenotípico das linhagens fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1) e aquelas utilizadas como fontes de suscetibilidade (L_S 70-2, L_S 71-1 e L_S 95-1). As baixas notas de escala observadas para as linhagens L_R 04-2 e L_R 23-1 nos dois experimentos, independente do período de avaliação, confirmam o potencial de resistência destes genótipos à antracnose foliar. O desempenho intermediário das gerações filiais (F_1 's) e das gerações de segregação (F_2 's, RC_1 's e RC_2 's) em relação à média dos respectivos genitores, pressupõe predominância da ação gênica aditiva no controle da resistência à antracnose foliar.

O modelo genético aditivo-dominante confirmou o predomínio da ação gênica aditiva para a resistência à antracnose foliar nas seis famílias analisadas. A maior porcentagem dos efeitos genéticos aditivos, independente do experimento, do período de avaliação da doença ou da família segregante, reforça a importância desta ação gênica para a herança da resistência à antracnose foliar no conjunto de famílias analisadas.

Os elevados coeficientes de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_a^2$) e restrito ($\hat{h}_r^2$), obtidos no presente trabalho, indicam a baixa participação do ambiente na expressão da resistência à antracnose foliar, além de servirem como base para a escolha do melhor método de seleção e de condução das populações segregantes pelos programas de melhoramento da cultura. Os altos valores da heterose ($\hat{H}$ e $\hat{H}_0$) confirmam o potencial genético das linhagens utilizadas como fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1) em transmitir os genes de resistência às gerações filiais (F_1 's). O reduzido número de genes evidencia o controle oligogênico da resistência de milho à antracnose foliar, facilitando a seleção artificial devido ao reduzido número de genótipos possíveis para a combinação dos alelos de resistência.

O predomínio da ação gênica aditiva, os elevados coeficientes de herdabilidade e controle oligogênico da resistência neste conjunto de linhagens, indicam condição bastante

favorável para os programas de melhoramento de milho, devido à baixa influência do ambiente e à facilidade na seleção de indivíduos com maior frequência de alelos favoráveis para a resistência. Neste sentido, a seleção artificial realizada desde as gerações iniciais de segregação através de metodologias simples como a seleção massal e a seleção recorrente fenotípica, além de práticas, podem ser muito eficientes na obtenção de genótipos de milho resistentes à antracnose foliar.

6 CONCLUSÕES

A avaliação das linhagens endogâmicas de milho nos três experimentos permitiram confirmar a existência de grande variabilidade genética para a resistência/suscetibilidade à antracnose foliar neste grupo de linhagens.

As linhagens L 04-2, L 23-1, L 87-3, L 99-4 e L 118-4 destacaram-se pelos menores valores de AACPD nos três experimentos, evidenciando a possibilidade de utilização destas linhagens endogâmicas como fontes de genes de resistência à antracnose foliar em programas de melhoramento.

As elevadas estimativas dos parâmetros genéticos (variância genética, herdabilidade e quociente $\hat{b}$) evidenciam a baixa participação dos efeitos ambientais na expressão da resistência, bem como a possibilidade de sucesso na seleção artificial.

A ação gênica aditiva foi predominante no controle genético da resistência de milho à antracnose foliar em todas as famílias segregantes.

Os elevados coeficientes de herdabilidade no sentido amplo e restrito confirmam a grande contribuição dos efeitos genéticos para resistência à antracnose foliar em milho.

As fontes de resistência (L_R 04-2 e L_R 23-1) foram muito eficientes em transmitir os genes de resistência para as gerações filiais uma vez que para todas as famílias a heterose foi negativa e de grande magnitude.

A herança da resistência de milho à antracnose foliar neste conjunto de famílias segregantes é prioritariamente oligogênica.

O melhor período para quantificar a severidade da antracnose foliar na cultura do milho está compreendido nas avaliações realizadas entre os estádios de desenvolvimento 3 e 6 da cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2004. 922 p.
- BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V. E.; BERGSTROM, G. C. A major gene for resistance stalk rot in maize. **Phytopathology**, v. 77, n. 6, p. 957-959. 1987a.
- BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V. E.; BERGSTROM, G. C. A major gene for resistance to anthracnose leaf blight in maize. **Plant Breeding**, v. 98, n. 3, p. 194-199, jun. 1987b.
- 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. 1987c.
- BARBOSA, M. P. M. **Variabilidade patogênica de *Colletotrichum graminicola* isolado de milho (*Zea mays* L.)**. 2001, 112 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
- BARBOSA, C. A. **Manual da cultura do milho**. Viçosa: AgroJuris, 574p. 2010.
- BASF. Estação experimental de Ponta Grossa. **Dados meteorológicos**. Ponta Grossa, 2013.
- BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p.647-666.
- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose. **Plant Disease**, v. 83, n. 7, p. 596-608. 1999.
- BNDES, Banco Nacional do Desenvolvimento. **Estudos de demanda**. 2011. 126 p. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/arqs/corredor_bioceanico/Produto%20A%20Parte%20IB.pdf>. Acesso em: 14 out. 2012.
- BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 969p.
- BRANDÃO, A. M. et al. Fungicidas e épocas de aplicação no controle da ferrugem comum (*Puccinia sorthi* sehwa.) em diferentes híbridos de milho. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 1, p. 43-52. 2003.
- BRITO, A. H. de. et al. Avaliação da severidade da cercosporiose e rendimento de grãos em híbridos comerciais de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 7, n. 1, p. 19-31. 2008.
- BRUNELLI, K. R. ***Cercospora Zeae-maydis*: Esporulação, Diversidade Morfo-Genética e Reação de linhagens de milho**. 2004, 118 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- CALGARO, F. et al. Avaliação da eficiência de fungicidas no controle de mancha branca (*Phaeosphaeria maydis*) na cultura do milho. In: Encontro Anual de Iniciação Científica, 19, 2010, Guarapuava. **Anais...** Guarapuava, 2010. Disponível em: <<http://anais.unicentro.br/xixeaic/pdf/2439.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2013.

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, n. 3, p. 1031-1036. 1992.

CAMELINI, J. H.; CASTILLO, R. Etanol e uso corporativo do território. **Mercator**, v. 11, n. 25, p. 7-18. 2012.

CARSON, M. L.; HOOKER, A. L. Inheritance of resistance to anthracnose leaf blight in five inbred lines of corn. **Phytopathology**, v. 71, n. 5, p. 488-491. 1981a.

CARSON, M. L.; HOOKER, A. L. Inheritance of resistance to stalk rot of corn caused by *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 71, n. 11, p. 1190-1196. 1981b.

CARVALHO, D. O. et al. Efeito do nitrogênio e do potássio no período de incubação e no período latente de *Colletotrichum graminicola* em duas cultivares de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27, 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2008.

CASELA, C. R. et al. **Doenças foliares do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. 5 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documento Técnico, 72). Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/comuni72.pdf>>. Acesso em: 5 nov. 2012.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 83). Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2006/circular/Circ_83.pdf>. Acesso em: 14 out. 2012.

CASTELLANI, A. The viability of some pathogenic fungi in sterile distilled water. **Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-226. 1939.

CATÃO, H. C. R. M. et al. Qualidade sanitária de sementes de milho crioulo (*Zea mays* L.) produzidas no município de Porteirinha – MG. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 253-256, out. 2007.

COELHO, R. M. S. et al. Controle genético da antracnose foliar em milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 640-643, set. 2001.

COELHO, A. M.; CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A. Rendimento do milho no Brasil: chegamos ao máximo? **Informações Agronômicas**, v. 101, p. 1-12, 2002. Encarte técnico. Disponível em: <[http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/54f495ffab600eaa83257b0900456a4a/\\$FILE/Palestra%20do%20Antonio.pdf](http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/54f495ffab600eaa83257b0900456a4a/$FILE/Palestra%20do%20Antonio.pdf)>. Acesso em: 5 nov. 2012.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira: grãos, nono levantamento**. Publicação Mensal, 34p. Junho, 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_06_09_09_27_boletim_graos_-_junho_2013.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2012.

COSTA, R. V. da; CASELA, C. A.; COTA, L. V. Doenças. In: CRUZ, J. C. (Ed.). Cultivo do milho. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/doencas.htm>. Acesso em: 11 out. 2012.

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

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Aplicativo Computacional em Genética e Estatística Experimental. Versão 7.0.** Viçosa: UFV, 2009.

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

CRUZ, J. C. et al. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho.** Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Serviço de produção de informação. 2 ed. 1996.

CRUZ, J. C. et al. **Produção de milho na agricultura familiar.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 42 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 159). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/905143/1/circ159.pdf>>. Acesso em: 11 out. 2012.

DALE, J. L. Corn anthracnose. **Plant Disease**, v. 47, n. 4, p. 245-249, 1963.

DUARTE, J. de O. et al. Economia da produção. In: CRUZ, J. C. **Cultivo do milho.** 6. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010.

EBERHART, S. A.; RUSSEL, W. A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, v. 1, n. 1, p. 36-40. 1966.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 2. ed. Brasília: Embrapa, 2006.

FANCELLI, A. L. **Plantas Alimentícias: guia para aula, estudos e discussão.** Piracicaba: CALQ, 1986. 131p.

FANCELLI, A. L. **Tecnologia da produção do milho para alta produtividade.** Piracicaba: ESALQ/USP, 1994. 222 p.

FERNANDES, F. T.; BALMER, E. Situação das doenças de milho no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 14, p. 35-37. 1990.

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. **Antracnose do milho (*Colletotrichum graminicola*).** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 13). Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/30147/1/circ-13.pdf>>. Acesso em: 11 jun. 2012.

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

GABRIEL, A. et al. Efeito de Épocas de Semeadura na Severidade de Doenças Foliares em Híbridos de Milho Duplo Propósito. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: ABMS, 2012. p. 727-732.

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

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

IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná. **Cartas climáticas do Paraná.** Disponível em: <<http://www.iapar.br>>. Acesso em: 5 nov. 2012.

- 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, n. 3, p. 281-286. 1985.
- 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, n.5, p. 601-610, mai. 2011.
- JULIATTI, F. C. et al. Efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar de fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 34-41. 2007.
- JULIATTI, F. C.; SOUZA, R. M. Efeito de épocas de plantio na severidade de doenças foliares e produtividade de híbridos de milho. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 1, p. 103-112. 2005.
- LANZA, F. E. **Mancha Branca do milho: Etiologia e resistência de genótipos**. 2009, 32 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.
- 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, mai. 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, set. 1978.
- LIPPS, P. E. Survival of *Colletotrichum graminicola* in infested corn residues in Ohio. **Plant Disease**, v. 67, n. 1, p. 102-104, jan. 1983.
- LIPPS, P. E. Spread of corn anthracnose from surface residues in continuous corn and corn-soybean rotation plots. **Phytopathology**, v. 78, n. 6, 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, n. 4, p. 343-349, jul./ago. 2005.
- LOPES, M. T. G. **Mapeamento de genes de resistência à mancha de phaeosphaeria em milho (*Zea mays* L.)**. 2003, 117 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- LOPES, M. T. G. et al. Progeny evaluation for resistance to leaf spot in tropical maize. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 33, p. 49-53, 2011.
- LYONS, P. C. et al. Phenylpropanoid dissemination in maize resistant or susceptible to *Helminthosporium maydis*. **Maydica**, v. 38, n. 3, p. 175-181. 1993.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MARTIN, T. N. et al. Questões relevantes na produção de sementes de Milho - primeira parte. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 14, p. 119-138. 2007.
- MATHER, K.; JINKS, J. L. **Biometrical genetics**. Ithaca: Cornell University Press, 1971. 382 p.

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

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, n. 3, p. 179-184, set. 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, mar./abr. 2013.

MÁXIMO, D. da S. **Controle genético da resistência de milho à antracnose do colmo.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2013.

MICHELMORE, R. W.; PARAN, I.; KESSELI, R. V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proceedings National Academy of Sciences**, v. 88, p. 9828-9832. 1991.

MIRANDA FILHO, J. B. Quantitative analysis of a cross between populations and their derived generations. **Revista Brasileira de Genética**, v.14, n.2, p.547-561. 1991.

MIRANDA, G. V.; GALVÃO, J. C. C. Tecnologia de Produção de Milho. Lavras: UFLA, 2008. 366 p.

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

NAYLOR, V. D.; LEONARD, K. J. Survival of *Colletotrichum graminicola* in infected corn stalks in North Carolina. **Plant Disease**, v. 61, n. 5, 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.; WARREN, H. L. Criteria for evaluation of resistance to maize anthracnose. **Phytopathology**, v. 66, p. 86-90, jan. 1976.

OLIVEIRA, B. R. et al. Ensaio de Competição de Híbridos Comerciais e Pré-Comerciais Precoces de Milho no Município de Guarapuava, PR. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: ABMS, 2012. p. 1973-1979.

PEREIRA, O. A. P.; CARVALHO, R. V.; CAMARGO, L. E. A. Doenças do milho. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. REZENDE, J. A. M. BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas.** São Paulo: Ceres, 2005. p. 477-488.

PINHO, R. G. V. et al. Danos causados pelas ferrugens polissora e tropical no milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 400-409. 1999.

PINTO, N. F. J. de A. **Reação de cultivares com relação à produção de grãos ardidos em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 4 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 144). Disponível em: <http://www.abms.org.br/29cn_milho/03401.pdf>. Acesso em: 17 out. 2012.

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

POSSATTO JUNIOR, O. et al. Controle de Doenças Foliares com uso de Fungicida em Híbridos de Milho com Diferentes Níveis de Resistência. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29, 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: ABMS, 2012. P. 481-487.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. Lavras: UFLA, 2012. 522 p.

REIS, E. M. et al. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 2004. 141 p.

REZENDE, V. F. **Análise genética da resistência à antracnose foliar em milho**. 2004, 103 f. Tese (Doutorado em Agromonia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

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**. 2001, 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Version 8.1, Cary: SAS Institute, v.2. 2000.

SCHALL, R. A.; NICHOLSON, R. L.; WARREN, H. L. Influence of light on maize anthracnose in the greenhouse. **Phytopathology**, v. 70, N. 10, p. 1023-1026. 1995.

SEAB, Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. **Análise da conjuntura agropecuária**. Safra 2011/12 – Milho. 2011, 14 p. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/milho_2011_12.pdf> Acesso em: 11 de outubro de 2012.

SHANER, G.; FINNEY, R. F. The effects of nitrogen fertilization on the expression of show-mildwing in knox wheat. **Phytopathology**, v. 67, p. 1051-1055. 1977.

SILVA, H. P. **Herança da resistência à antracnose foliar em milho (*Zea mays* L.) e métodos de avaliação**. 1983. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

SILVA, H. P. et al. Capacidade de combinação e heterose para resistência a *Puccinia polysora* Underw. em milho. **Scientia Agricola**, v.58, n. 3, p.777-783, mar. 2001.

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

SILVEIRA, F. T. et al. Herança da resistência ao enfezamento em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1717-1723, dez. 2008.

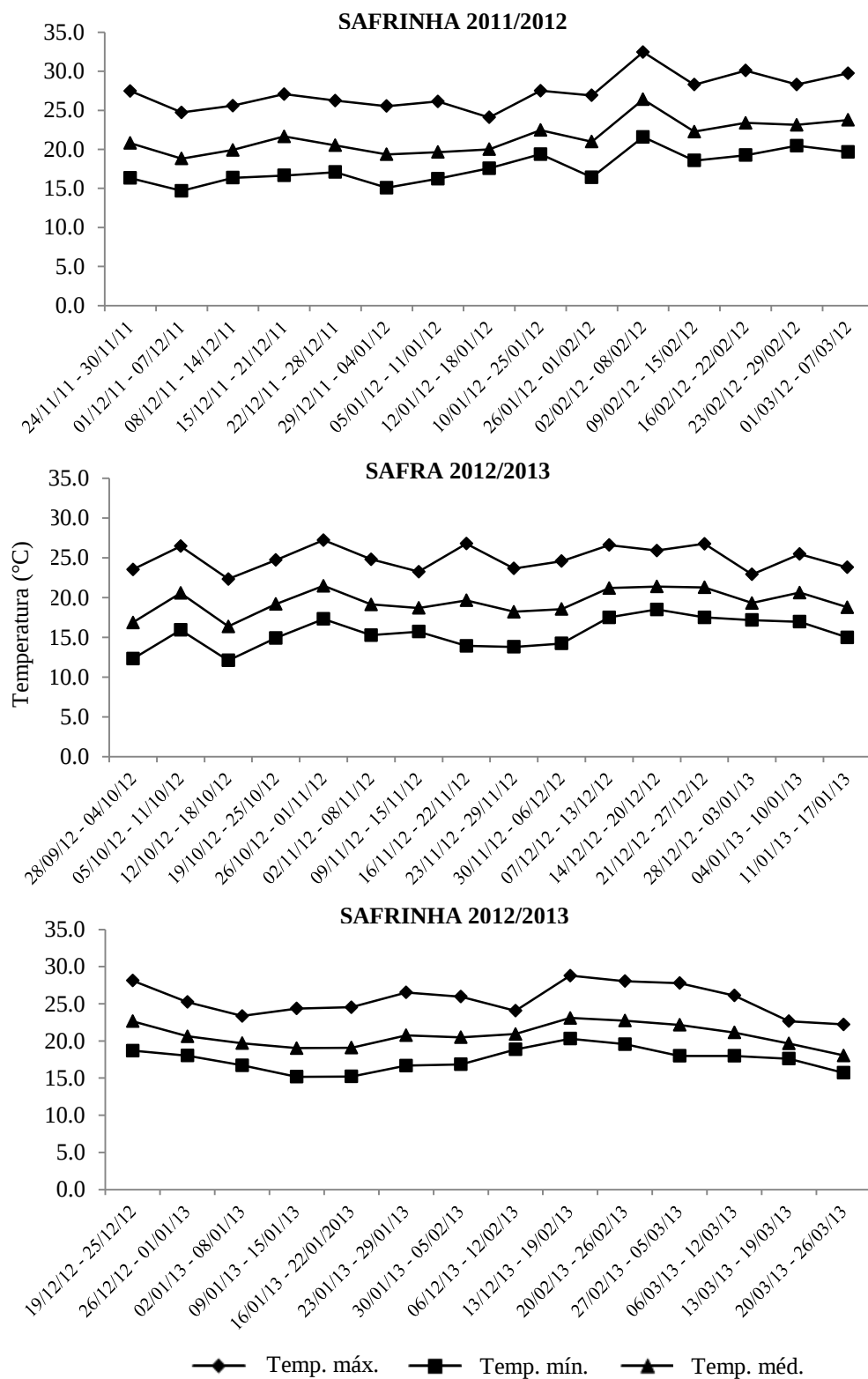
- SMITH, D. R. Yield reduction in dent corn caused by *Colletotrichum graminicola*. **Plant Disease**, v. 60, p. 967-970, 1976.
- SMITH, D. R.; WHITE, D. G. Diseases of corn. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J. W. **Corn and Corn Development**. 3. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1988. p. 687-766.
- SOUZA, J. C.; DUARTE, J. M. Reação de cultivares de milho a *Phaeosphaeria maydis*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n. 2, p. 325-331. 2002.
- TORRECIJA, M. **Resistência de linhagens endogâmicas de milho tropical à inoculação por *Colletotrichum graminicola***. 2012, 35 p. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.
- TSUNECHIRO, A.; ARIAS, E. R. A. Perspectivas de rentabilidade do milho "safrinha" nas principais regiões produtoras. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO "SAFRINHA", 4., 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC/CDV, 1997. p. 15-20.
- USDA, United States Department of Agriculture. **World Corn Production, Consumption, and Stocks**. 2012. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov>>. Acesso em 17 nov. 2012.
- VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 137-214.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.
- VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. Contribuição do melhoramento genético de plantas no Brasil. In: PATERNIANI, E. **Agricultura brasileira e pesquisa agropecuária. Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia**, 2000. p. 57-89.
- VIEIRA, R. A. et al. Resistência de híbridos de milho-pipoca a *Exserohilum turcicum*, agente causal da helmintosporiose do milho. **Scientia Agraria**, v. 10, n. 5, p. 391-395, set./out. 2009.
- VIZVARY, M. A.; WARREN, H. L. Survival of *Colletotrichum graminicola* in soil. **Phytopathology**, v. 72, n. 5, p. 522-525. 1982.
- WARREN, H. L. Survival of *Colletotrichum graminicola* in corn kernels. **Phytopathology**, v. 67, n. 2, p. 160-162, fev. 1977.
- WARREN, H. L. et al. Observations of *Colletotrichum graminicola* on sweet corn in Indiana. **Plant Disease**, v. 57, p. 143-144. 1973.
- WARREN, H. L.; NICHOLSON, R. L. Kernel infection, seedling blight, and wilt of maize caused by *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 65. p. 620-623, mai. 1975.
- WHEELER, H.; POLITIS, D. J.; PONELEIT, C. G. Pathogenicity, host range, and distribution of *Colletotrichum graminicola* on corn. **Phytopathology**, v. 64, p. 293-296, mar. 1974.
- WHITE, D. G. **Compendium of corn diseases**. 3. ed. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1999. 128 p.
- 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.

WORDELL, F. J.; CASA, R. T. Doenças na cultura do milho. In. WORDELL FILHO et al., **A cultura do milho em Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2010. 480p.

YOUNG-KOOK, Y. et al. Use of *Colletotrichum graminicola* KA001 to Control Barnyard Grass. *Plant Disease*, v. 84, n. 1, p. 55-59. 2000.

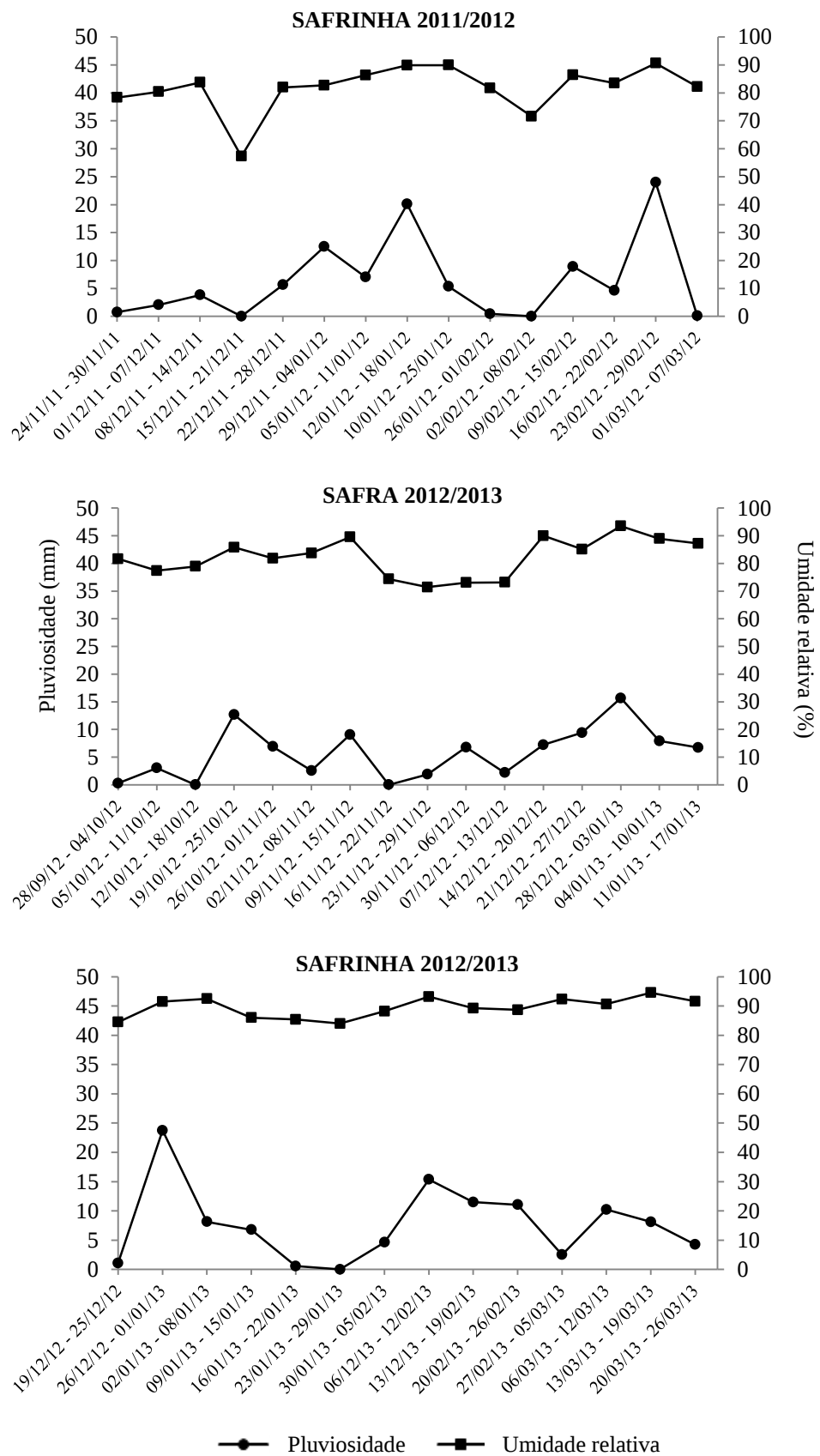
ZUBER et al. Effect of anthracnose leaf blight on stalk rind strength and yield in F₁ single crosses in maize. **Plant Disease**, v. 65, p. 719-722, set. 1981.

ANEXOS



Anexo 1 – Temperatura máxima, mínima e média semanais para a safrinha 2011/2012, safra 2012/2013 e safrinha 2012/2013. Ponta Grossa, 2013.

Fonte: BASF (2013).



Anexo 2 – Pluviosidade e umidade relativa semanais para a safrinha 2011/2012, safra 2012/2013 e safrinha 2012/2013. Ponta Grossa, 2013 (Fonte: BASF, 2013).

Fonte: BASF (2013).