

EFEITOS DA SELEÇÃO RECORRENTE FENOTÍPICA SOBRE A RESISTÊNCIA A *EXSEROHILUM TURCICUM* (PASS.) LEONARDE & SUGGS EM MILHO¹

JORGE BLEICHER² e ERIC BALMER³

RESUMO - A influência da seleção recorrente fenotípica no aumento do nível de resistência ao *Exserohilum turcicum* em milho-pipoca, cultivar Pirapoca Amarela, foi avaliada em condições de casa de vegetação, em plantas jovens pertencentes a três ciclos de seleção. A resistência ao patógeno foi avaliada com base na frequência de infecção e na área média de lesões. Quanto às reações apresentadas por plantas de diferentes ciclos de seleção, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas quanto à frequência de infecção, sendo, no entanto, observadas diferenças significativas com relação à área média de lesões em algumas populações selecionadas, em comparação com a da população original.

Termos para indexação: melhoramento de plantas, milho-pipoca, cultivar Pirapoca Amarela, patógeno.

RECURRENT PHENOTYPIC SELECTION AND EFFECTS ON THE RESISTANCE TO *EXSEROHILUM TURCICUM* (PASS.) LEONARD & SUGGS IN MAIZE

ABSTRACT - The effect of three recurrent phenotypic selection cycles on the increase of the resistance level to *Exserohilum turcicum* in popcorn, Pirapoca Amarela cultivar, was evaluated in corn seedlings under green-house conditions. The resistance to the pathogen was evaluated taking into account the infection frequency and the average lesion area. No statistically significant differences were detected for infection frequency; however, a statistically significant effect was detected for the average lesion area observed for the different selection cycles when compared to the original population.

Index terms: popcorn, plant breeding, Pirapoca Amarela cultivar, pathogen.

INTRODUÇÃO

Os primeiros sintomas, em milho, da presença de *Exserohilum turcicum* (sin. *Helminthosporium turcicum*), segundo De Leon (1978), podem ser facilmente identificados como pequenas lesões de forma quase oval que aparecem nas folhas do milho, desenvolvendo-se em lesões necróticas fusiformes. Aparecendo inicialmente nas folhas inferiores, as lesões aumentam em tamanho e em número à medida que a planta se desenvolve. Em

condições favoráveis, cobrem extensas áreas do hospedeiro.

A resistência poligênica, bastante comum, foi a primeira a ser descoberta e utilizada no controle da queima-do-milho. Esta resistência é expressa na forma de um menor número de lesões com pequeno decréscimo no tamanho de lesões e na quantidade de esporulação, quando em condições favoráveis de umidade e temperatura (Hilu & Hooker 1963, 1965, Ullstrup 1970, Hughes & Hooker 1971). Esta resistência, segundo Hilu & Hooker (1964), se manifesta claramente no estágio de plantas adultas de milho.

Robinson (1973) comenta que altos níveis de resistência horizontal (RH) à *Puccinia polysora* foram desenvolvidos em populações susceptíveis, sem qualquer introdução de material parental resistente. Neste caso, os genes para RH estavam presentes nas populações, porém em baixas fre-

¹ Aceito para publicação em 30 de abril de 1993.

Extraído da Tese apresentada à Esc. Sup. de Agric. "Luiz de Queiroz" (USP), pelo primeiro autor, para obtenção de grau de Doutor em Agronomia na área de Fitopatologia.

² Eng.-Agr., Dr., EPAGRI S.A., CTA de Caçador, Caixa Postal 591, CEP 89500-000 Caçador, SC.

³ Eng.-Agr., Prof., Dep. de Fitopat., ESALQ/USP, Caixa Postal 9, CEP 13400-000 Piracicaba, SP.

quências, não permitindo a expressão completa desta resistência.

Na caracterização dos componentes da resistência horizontal, Van der Plank (1966) menciona três características: a) as plantas são mais resistentes à infecção, ou seja: apenas uma pequena proporção dos esporos do patógeno é capaz de infectar a planta, iniciando poucas lesões; b) as novas lesões demoram mais para esporular; c) menos esporos são produzidos por lesão durante o período infeccioso.

Segundo Parlevliet (1979), as resistências que reduzem a taxa aparente de infecção (r) estão relacionadas com o efeito cumulativo dos seguintes fatores: frequência de infecção, período latente, período infeccioso e produção de esporos.

Fatores como período de incubação (PI) e tamanho de lesão (TL) não são propriamente considerados como componentes da resistência, pois não afetam a taxa de reprodução do patógeno, mas tendem a ser altamente correlacionados com o período latente (PL) e a produção de esporos (PE), respectivamente (Parlevliet 1979).

Os experimentos de Ramirez (1986), conduzidos em casa de vegetação, através da análise dos parâmetros tipo de reação, comprimento e largura de lesão, revelaram diferentes graus de susceptibilidade ao *E. turcicum*, em plantas jovens de progênie de milho-pipoca, cultivar Pirapoca Amarela, resultantes de um ciclo de seleção recorrente em condições de campo. O autor observou que os diferentes tipos de reação de susceptibilidade ao *E. turcicum* tinham influência na quantidade de esporos produzidos na lesão.

Jenkins et al. (1954) testaram a eficiência da seleção recorrente em concentrar genes de resistência poligênica em nove grupos de progênies. Os resultados revelaram que, na maioria dos grupos, duas seleções recorrentes foram eficientes para concentrar genes de resistência que promoviam um bom controle da doença, sendo que em alguns casos houve redução no nível de resistência.

Como a maior parte da ação gênica é aditiva no tipo de resistência relacionada com o número de lesões, Hooker (1973) acredita que o procedimento de simples seleção pode ser eficiente no isolamento de linhagens de milho com resistência

poligênica ao *E. turcicum*. A seleção recorrente, segundo o mesmo autor, tem mostrado ser um meio eficiente na concentração de genes de resistência.

Segundo Miles et al. (1980, 1981), o aumento da resistência ao *E. turcicum* é possível por qualquer um dos vários métodos de seleção recorrente. A obtenção de resistência quantitativa à doença tem sido rápida através da seleção recorrente. A resistência ao *E. turcicum* pode ser conseguida com apenas dois a três ciclos de seleção.

O trabalho de Miles et al. (1980) indica que existe uma atividade genética significativa para resistência ao *E. turcicum*. Os dados sugerem que é possível aumentar o nível de resistência a várias doenças simultaneamente, porque a estimativa da correlação genética entre os escores das diferentes doenças geralmente foi positiva.

O presente trabalho visou a determinar o efeito da seleção recorrente fenotípica efetuada em milho, cultivar Pirapoca Amarela, sobre a frequência de lesões e o tamanho das lesões causadas por *E. turcicum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatro populações de milho-pipoca, cultivar Pirapoca Amarela, do Instituto de Genética da ESALQ/USP, obtidas por seleção recorrente fenotípica, foram utilizadas no presente estudo.

A partir da população original da cultivar Pirapoca Amarela, foram efetuados três ciclos de seleção recorrente fenotípica para o aumento da resistência ao *E. turcicum*. As populações de cada ciclo foram submetidas a uma epidemia de *E. turcicum*, em condições de campo, induzida artificialmente, sendo as plantas infectadas no estádio de quatro a cinco folhas, colocando-se no cartucho da planta dois a três grãos de sorgo previamente colonizados pelo fungo.

Nos diferentes ciclos de seleção, as plantas mais susceptíveis ao patógeno foram eliminadas, tendo-se, como critério de seleção, eliminar as que apresentassem uma severidade maior da doença no terço inferior da planta. Este procedimento foi repetido de duas a três vezes antes do florescimento. Novas eliminações foram realizadas após o florescimento.

Cada população de milho, cultivar Pirapoca Amarela, consistiu de aproximadamente 2.000 plantas, com espaçamento de 1 m entre linhas e 0,20 m entre plantas.

Das plantas selecionadas, foram coletadas as espigas superiores, as quais foram debulhadas separadamente e formaram nova população pela mistura dos grãos das espigas selecionadas. As sementes das diferentes populações foram armazenadas em condições de ambiente controlado.

O isolado de *E. turcicum* usado nos experimentos foi obtido de plantas de milho, cultivar Pirapoca Amarela, artificialmente infectadas, coletadas em campo experimental da ESALQ/USP.

Para o isolamento de *E. turcicum*, segmentos de folhas com lesões foram desinfectados superficialmente com hipoclorito de sódio a 1%, por um a dois minutos, lavados, a seguir, em água destilada, sendo, posteriormente, colocados em placas-de-petri, em condições de umidade relativa elevada, a qual foi obtida por meio de três folhas de papel de filtro saturadas de água.

A seguir, foi feita, assepticamente, a transferência de conídios para placas-de-petri contendo o meio de lactose-caseína (LCH) (Malca & Ullstrup 1962), sendo estas incubadas à temperatura de 21°C, na ausência de luz, por aproximadamente dez dias.

Para a obtenção do inóculo, foram adicionados 10 ml de água destilada a cada placa-de-petri contendo culturas puras de *E. turcicum*, desalojando-se os conídios dos conidióforos com um pincel de pelos finos.

A suspensão de esporos obtida foi filtrada numa camada dupla de gaze, com a finalidade de remover os fragmentos do meio de cultura e reduzir a quantidade de micélio em suspensão.

A concentração de conídios na suspensão foi ajustada mediante o uso de um hemacitômetro tipo Neubauer, para 2.500 conídios/ml para o primeiro experimento, e 10.000 conídios/ml para os demais experimentos.

Os experimentos seguiriam o delineamento experimental de blocos ao acaso com quatro tratamentos e cinco blocos, sendo a parcela constituída por cinco va-

sos, contendo cada vaso cinco plantas, totalizando 25 plantas por parcela.

A inoculação em casa de vegetação foi feita no estádio fenológico 4, correspondente a três ou quatro folhas verdadeiras, segundo Hanway (1966), utilizando-se um pulverizador manual, bico tipo "cone cheio". Foram inoculados 50 ml de uma suspensão de conídios em cada parcela.

Após a inoculação, as plantas foram mantidas em condições de câmara úmida por 48 horas. Após este período, as plantas foram mantidas em condições normais de casa de vegetação até a coleta de dados.

Três experimentos foram executados para avaliar a frequência de infecção, considerada como o número médio de lesões por planta. Na determinação da área média de lesões, considerou-se a maior lesão observada em dez plantas, escolhidas aleatoriamente, de cada parcela.

As datas de plantio, de infestação e de avaliação destes experimentos estão apresentadas na Tabela 1.

Para avaliação da área média de lesão, a folha infectada foi colocada sobre uma lâmina de plástico e coberta com uma placa de vidro de 3,0 mm de espessura. A mensuração foi feita sob uma placa sensível, acoplada a um computador Apple IIe, onde foram desenhados os contornos das lesões, sendo a área calculada pelo programa "Grafic Tablet".

Para a análise dos parâmetros, frequência de infecção e área média de lesão, os dados foram transformados em \sqrt{x} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nenhum dos experimentos foram detectadas diferenças significativas quanto à frequência de infecção entre diferentes ciclos de seleção (Tabela 2). Fatores relacionados ao meio ambien-

TABELA 1. Datas de plantio, de inoculação com *E. turcicum* e da avaliação da frequência de infecção e da área de lesão em experimentos conduzidos em casa de vegetação.

Atividade	Frequência de infecção (Tabela 2)			Área média de lesão (Tabela 3)		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
Plantio	19.12.86	08.02.87	16.03.87	05.02.87	08.02.87	16.03.87
Inoculação	05.01.87	25.02.87	03.04.87	25.02.87	25.02.87	03.04.87
Avaliação	20.01.87	14.03.87	15.04.87	13.03.87	14.03.87	15.04.87

te ou ao inóculo devem ter influenciado no número médio de lesões verificadas nos diferentes experimentos realizados em casa de vegetação.

Foram observadas, entre os experimentos, diferenças quanto ao número médio de lesões por planta, tendo a frequência de infecção aumentado de um experimento para outro (Tabela 2).

Embora não tenham sido detectadas diferenças significativas quanto à frequência de infecção entre a população original e os diferentes ciclos de seleção testados nos diferentes experimentos, foi verificada, de modo geral, uma tendência para redução no número médio de lesões entre a população original e a resultante do terceiro ciclo de seleção. Assim, a população de plantas do terceiro ciclo de seleção apresentou reduções da ordem de 19,57%, 11,0% e 10,41%, respectivamente, no primeiro, segundo e terceiro experimento, em relação à população original.

As análises da área média de lesão nos diferentes ciclos revelaram que o teste F foi significativo, ao nível de 1% probabilidade, em todos os experimentos. O teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, não revelou, em nenhum dos experimentos, diferenças significativas na área de lesão entre a população original e o primeiro ciclo de seleção, mas ocorreu em todos os casos uma redução significativa na área de lesão entre o

primeiro e o terceiro ciclo de seleção (Tabela 3).

O aumento da temperatura média no período de execução do terceiro experimento pode ter causado uma redução no tamanho médio de lesão, sem, no entanto, afetar a diferença entre o primeiro e o terceiro ciclo.

A redução do número médio de lesões, que, segundo Jenkins & Robert (1961) e Hooker (1973), estaria relacionada à resistência de milho a *E. turcicum*, não foi observada em plantas jovens da cultivar Pirapoca Amarela, testada no presente estudo.

Com base nestes resultados, pode-se supor que a redução do número médio de lesões não seja um parâmetro adequado para detectar o efeito de poucos ciclos de seleção com vistas à resistência na cultivar Pirapoca Amarela, no estádio de plantas jovens.

Com relação à área média das lesões, em todos os experimentos, o terceiro ciclo foi estatisticamente superior ao da população original. Portanto, nos ciclos obtidos por seleção recorrente para resistência ao *E. turcicum* ocorreu uma redução na área de lesão causada pelo fungo.

Estes dados estão de acordo com os observados por vários autores (Hilu & Hooker 1963, 1965, Ullstrup 1970, Hughes & Hooker 1971). A resistência condicionada por vários genes reduz o

TABELA 2. Frequência de infecção no sistema *E. turcicum*-milho, cultivar Pirapoca Amarela.

Populações e ciclos	Número médio de lesões por planta*		
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Original	1,84 a**	6,27 a**	9,22 a**
Primeiro	1,82 a	6,70 a	9,51 a
Segundo	1,53 a	5,42 a	8,86 a
Terceiro	1,48 a	5,58 a	8,26 a
Temperatura média no período	(***)	28,6 °C	31,9 °C
D.M.S. (5%)	0,58	1,47	1,54
C.V.	18,61%	13,03%	9,15%

* Médias de 5 blocos.

** Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

*** Dados não coletados.

TABELA 3. Área média das lesões de *E. turcicum* em centímetros quadrados, em três ciclos de seleção em milho, cultivar Pirapoca Amarela.

Populações e ciclos	Número médio de lesões*		
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Original	5,26 a**	3,89 a**	1,27 a*
Primeiro	5,39 a	4,57 a	1,35 a
Segundo	5,36 a	2,49 b	1,10 ab
Terceiro	2,82 ab	2,45 b	0,87 b
Temperatura média no período	28,6 °C	28,6 °C	32,9 °C
D.M.S. (5%)	0,68	0,35	0,17
C.V.	12,91%	7,85%	6,51%

* Médias de 5 blocos.

** Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

tamanho da lesão pelo retardamento do crescimento das hifas no mesófilo (Jennings & Ullstrup 1957, Hilu & Hooker 1964).

Hilu & Hooker (1964) afirmaram que diferenças no nível de resistência horizontal, baseadas no tamanho de lesão causadas por *E. turcicum*, se manifestam no estágio de planta adulta. No presente caso, foi possível diferenciar níveis de resistência, com base no tamanho das lesões de plantas com 30 a 36 dias de idade.

CONCLUSÕES

1. A seleção recorrente fenotípica é eficiente para aumentar o nível de resistência ao *E. turcicum* em cultivares altamente susceptíveis a este patógeno.

2. A resistência manifesta-se através da redução da área média das lesões causadas por *E. turcicum*.

3. Os níveis de resistência ao *E. turcicum* observados em diferentes ciclos não influenciaram na frequência de infecção, quando avaliados em condições de casa de vegetação, em plantas jovens.

REFERÊNCIAS

- De LEON, C. **Moléstias do milho**; guia para sua identificação no campo. 2.ed. Piracicaba: Fundação Cargill, 1978. 92p.
- HANWAY, J.J. **Growth stages of corn (*Zea mays* L.)**. Iowa: Iowa State University, 1966. (Spec. Rep., 48).
- HILU, H.M.; HOOKER, A.L. Host-pathogen relationship of *Helminthosporium turcicum* in resistant and susceptible corn seedlings. **Phytopathology**, St. Paul, v.54, p.570-575, 1964.
- HILU, H.M.; HOOKER, A.L. Localized infection by *Helminthosporium turcicum* on corn leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v.55, p.189-192, 1965.
- HILU, H.M.; HOOKER, A.L. Monogenic chlorotic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn seedlings. **Phytopathology**, St. Paul, v.53, p.909-912, 1963.
- HOOKER, A.L. Maize. In: NELSON, N. **Breeding Plants for Disease Resistance**; concepts and applications. Pennsylvania: Pens. Stat. Univer. Press, 1973. p.132-154.
- HUGHES, G.R.; HOOKER, A.L. Gene action conditioning resistance to northern leaf blight in maize. **Crop Science**, Madison, v.11, p.180-184, 1971.
- JENKINS, M.T.; ROBERT, A.L. Further genetic studies on resistance to *Helminthosporium turcicum* Pass. in maize by means of chromosomal translocations. **Crop Science**, Madison, v.1, p.450-455, 1961.
- JENKINS, M.T.; ROBERT, A.L.; FINDLEY JUNIOR, W.R. Recurrent selection as a method for concentrating genes for resistance to *Helminthosporium turcicum* leaf blight in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v.46, p.89-94, 1954.
- JENNINGS, P.R.; ULLSTRUP, A.J. A histological study of three *Helminthosporium* leaf blights of corn. **Phytopathology**, St. Paul, v.47, p.707-714, 1957.
- MALCA, I.; ULLSTRUP, A.J. Effects of carbon and nitrogen nutrition on growth and sporulation of two species of *Helminthosporium*. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v.89, p.240-249, 1962.
- MILLES, J.W.; DUDLEY, J.W.; WHITE, D.G.; LAMBERT, R.J. Improving corn population for grain yield and resistance to leaf blight and stalk rot. **Crop Science**, v.20, p.247-251, 1980.
- MILLES, J.W.; DUDLEY, J.W.; DUDLEY, D.G.; LAMBERT, R.J. Response to selection for resistance to four diseases in two corn populations. **Crop Science**, v.21, p.980-983, 1981.
- PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.17, p.203-222, 1979.
- RAMIREZ, A.B. **Graus de susceptibilidade a *Helminthosporium turcicum* Pass. em progênies de milho, cultivar Pirapoca Amarela**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1986. 59p. Tese de Mestrado.
- ROBINSON, R.A. Horizontal resistance. **Review of Plant Pathology**, London, v.52, n.8, p.483-501, 1973.
- ULLSTRUP, A.J. A comparison of monogenic and polygenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. **Phytopathology**, St. Paul, v.60, p.1597-1599, 1970.
- VAN der PLANK, J.E. **Breeding for horizontal resistance**. [S.l.:s.n.], 1966. 15p. Mimeografado.