

NAIRA FERNANDA TEIXEIRA DE ANDRADE

GERMINAÇÃO, VIGOR E INTENSIDADE DE PODRIDÕES DE SEMENTES DE MILHO EM DIFERENTES ÉPOCAS DE INOCULAÇÃO DE *Fusarium verticillioides* e *Stenocarpella macrospora*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

A553g
2015

Andrade, Naira Fernanda Teixeira de, 1984-

Germinação, vigor e intensidade de podridões de sementes
de milho em diferentes épocas de inoculação de *Fusarium*
verticillioides e *Stenocarpella macrospora* : . / Naira Fernanda
Teixeira de Andrade. – Viçosa, MG, 2015.

x, 29f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Luiz Antonio Maffia.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.25-29.

1. *Zea mays*. 2. Sementes - Doenças e pragas. 3. Sementes
- Qualidade. 4. Germinação. 5. Fungos fitopatogênicos.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitopatologia. Mestrado em Defesa Sanitária Vegetal -
Profissional. II. Título.

CDD 22. ed. 631.521

NAIRA FERNANDA TEIXEIRA DE ANDRADE

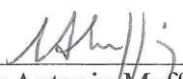
GERMINAÇÃO, VIGOR E INTENSIDADE DE PODRIDÕES DE SEMENTES DE MILHO EM DIFERENTES ÉPOCAS DE INOCULAÇÃO DE *Fusarium verticillioides* e *Stenocarpella macrospora*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de abril de 2015.


Eduardo Seiti Gomide Mizubuti


Gilcianny Pignata Cavalcante


Luiz Antonio Maffia
(Orientador)

Dedico ao meu esposo Jean Carlos,
e minhas filhas Isadora e Manuela.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e aos anjos protetores, que sempre me acompanham e me protegem a todo o momento de minha vida.

Agradeço ao meu esposo Jean Carlos que sempre me apoiou, incentivou e me deu ânimo para continuar e não fraquejar diante das dificuldades.

Agradeço a minha filha Isadora pela compreensão e paciência nos momentos de minha ausência.

Agradeço a minha filha Manuela que está em meu ventre, e virá ao mundo em Junho.

Agradeço aos meus pais Agnaldo e Joana, que me trouxeram com todo o amor e carinho a este mundo, dedicaram, cuidaram e doaram incondicionalmente seu sangue e suor em forma de amor e trabalho por mim, despertando e alimentando em minha personalidade, ainda na infância, a sede pelo conhecimento e a importância deste em minha vida que sempre me incentivaram a sempre buscar conhecimento e mesmo diante das dificuldades, sempre acreditaram em mim.

Agradeço aos meus avós Waldemar Alves Teixeira e Maria Aparecida no qual sempre espelhei-me em sua espiritualidade, humanismo e sabedoria.

Agradeço as minhas irmãs Débora e Naiara, que sempre elevaram minha autoestima e por sermos uma família unida.

Agradeço a empresa Dupont Pioneer Sementes por ter me concedido tempo e espaço para meus estudos e experimentos.

Agradeço aos meus companheiros de trabalho Damião Inácio, Janeo Eustaquio, Leandro Ramos, Júlio Cesar, Marcorelho, Maria Roberta, Thaís e Taline pela ajuda prestada nas implantações e conduções dos experimentos.

Agradecimento aos funcionários do Laboratório de Sementes da à empresa Dupont Pioneer Sementes, pela ajuda nas análises fisiológicas.

Agradeço as minhas amigas realizadas durante o Mestrado, em especial a Andrea, Enio, Rachel e Vanessa.

Agradecimento em especial ao meu Supervisor Élcio Alves pelos ensinamentos, confiança e credibilidade.

Agradeço aos Professores orientadores, Luiz Antônio Maffia, e Matheus Chediak que durante o curso e a dissertação, me ajudaram, compartilhando seus ensinamentos, conhecimentos e experiência.

BIOGRAFIA

Naira Fernanda Teixeira Andrade Domingos, filha de Agnaldo Andrade Pereira e Joana Darc Teixeira, nasceu em 09 de fevereiro de 1984, em Itumbiara, Estado de Goiás.

Em 2007, ingressou no curso de Biologia da Universidade Luterana do Brasil de Itumbiara (GO), onde se graduou em agosto de 2011.

Em 2012, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Luterana do Brasil de Itumbiara (GO), com previsão de término em dezembro de 2016.

Em março do mesmo ano, iniciou o curso de Mestrado em Defesa Sanitária Vegetal, na Universidade Federal de Viçosa (MG).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	02
2.1 Cultura do Milho	02
2.2 Impacto dos patógenos na produção de milho.....	02
2.3 Fitopatógenos associados aos grãos ardidos.....	03
2.4 Podridão causada por <i>Stenocarpella macrospora</i>	04
2.5 Podridão causada por <i>Fusarium verticillioides</i>	05
2.6 Qualidade Sanitária das sementes.....	05
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	06
3.1 Isolados e multiplicação de <i>Fusarium verticillioides</i> e <i>Stenocarpella macrospora</i>	06
3.2 Inoculação.....	07
3.3 Avaliações	08
3.4 Análises Estatísticas	10
4. RESULTADOS	11
4.1. Intensidade das doenças, germinação e vigor de sementes de plantas de seis híbridos de milho inoculadas com <i>Stenocarpella macrospora</i> ou <i>Fusarium verticillioides</i>	11
4.1.1. Análises relacionadas a <i>Stenocarpella macrospora</i>	13
4.1.2. Análises relacionadas a <i>Fusarium verticillioides</i>	15
4.2. Correlação entre as variáveis avaliadas	17
5. DISCUSSÃO	20
6. CONCLUSÕES	24
7. BIBLIOGRAFIA	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Inoculação com <i>Fusarium verticillioides</i>	07
Figura 2: Inoculação com <i>Stenocarpella macrospora</i>	07
Figura 3: Temperatura e umidade relativa do ar durante a execução dos experimentos, obtidos na Estação Meteorológica, localizada na Estação de Pesquisa da Du Pont Pioneer Sementes de Itumbiara.....	08
Figura 4: Escala diagramática usada para avaliar a severidade das podridões de espigas, causadas por <i>Fusarium verticillioides</i> ou <i>Stenocarpella macrospora</i> (Azevedo & Leite, 1995).....	08
Figura 5. Classificação de plântulas de milho no teste de vigor: normais (as com marcas em verde) e anormais (com marcas em vermelho).....	10

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Variáveis obtidas de experimentos de campo, com inoculação de *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides* em plantas de seis híbridos de milho, em três épocas: 1 (florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após). Médias (desvios padrão) de quatro repetições, em percentagem..... 12
- Tabela 2:** Nível de significância (p) dos efeitos de época de inoculação (E), híbrido (H) e da inoculação (I), das interações duplas E*H, E*I e H*I e da interação tripla E*M*I, obtidos em experimentos com plantas de seis híbridos de milho inoculadas com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*, no início do florescimento e aos 15 e 30 dias após, em Itumbiara GO. Para cada patógeno, avaliaram-se: severidade da doença em plantas (Sev), incidência em plantas (IncP) e em sementes (IncS), germinação (Germ) e Vigor das sementes. 13
- Tabela 3** Médias de incidência de doença em sementes, em plantas de seis híbridos de milho inoculadas com *Stenocarpella macrospora* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para $\text{arc}[(\text{sen}(\sqrt{\%/100}))]$ 14
- Tabela 4:** Médias de severidade de doença (Sev), incidência de doença em plantas (incP), incidência de doença em sementes (incS), germinação (Ger) e Vigor de sementes, em híbridos de milho inoculados ou não com *Stenocarpella macrospora* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para $\text{arc}[(\text{sen}(\sqrt{\%/100}))]$ 14
- Tabela 5:** Médias de severidade, incidência de doença em plantas (incP) e de incidência de doença em sementes (incS), em plantas de seis híbridos de milho inoculadas ou não com *Stenocarpella macrospora*, em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para $\text{arc}[(\text{sen}(\sqrt{\%/100}))]$ 15
- Tabela 6:** Médias de germinação de sementes de híbridos de milho inoculados com *Stenocarpella macrospora*. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para $\text{arc}[(\text{sen}(\sqrt{\%/100}))]$ 15
- Tabela 7:** Médias de incidência de doença em sementes (incS), germinação (Ger) e Vigor de sementes, em seis híbridos de milho inoculados com *Fusarium verticillioides* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para $\text{arc}[(\text{sen}(\sqrt{\%/100}))]$ 16

Tabela 8 Médias de severidade de doença (Sev) e de incidência de doença em sementes (incS), em híbridos de milho inoculados ou não com *Fusarium verticillioides* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].17

Tabela 9. Médias de incidência de doença em sementes (IncS) de plantas de híbridos de milho inoculadas ou não com *Fusarium verticillioides*, em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].17

Tabela 10. Coeficientes de correlação de Pearson entre severidade (Sev), incidência de doença nas espigas (IncP) e nas sementes (IncS), germinação (Germ) e Vigor, em seis híbridos de milho inoculados com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*, no início do florescimento, 15 e 30 dias após, em Itumbiara GO. Em cada época, os valores acima da diagonal principal referem-se a *S. macrospora*; os abaixo, referem-se a *F. verticillioides*. Todos os valores diferem de zero ($\alpha \leq 0,01$)18

Tabela 11. Coeficientes de correlação de Pearson entre severidade (Sev), incidência de doença nas espigas (IncP) e nas sementes (IncS), germinação (Germ) e Vigor, em seis híbridos de milho inoculados com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*. Em cada híbrido, os valores acima da diagonal principal referem-se a *S. macrospora*; os abaixo, referem-se a *F. verticillioides*. Todos os valores diferem de zero ($\alpha \leq 0,01$)..19

RESUMO

ANDRADE, Naira Fernanda Teixeira de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2015. **Germinação, vigor e intensidade de podridões de sementes de milho em diferentes épocas de inoculação de *Fusarium verticillioides* e *Stenocarpella macrospora***. Orientador: Luiz Antonio Maffia.

Fusarium verticillioides e *Stenocarpella macrospora* são os principais fitopatógenos causadores de grãos ardidos na cultura do milho (*Zea mays*). Visando ampliar o conhecimento relacionado à interação fungos-plantas de milho, avaliou-se a reação de seis híbridos (30K75YH, P2530, P3340YH, BG7061H, P3646YH e DKB310PRO2), inoculados com os dois patógenos em três estádios de florescimento: inicial, quando da emissão de estilo-estigma; florescimento pleno, 15 dias após o estágio inicial; e final, 30 dias após o estágio inicial. Houve efeito da época de inoculação na qualidade fisiológica e sanitária das sementes. Quanto a *F. verticillioides*, a severidade da podridão foi maior principalmente quando inoculado nos estádios 2 e 3, com houve redução significativa da qualidade sanitária, germinação e vigor das sementes. Quanto a *S. macrospora*, a severidade da podridão de sementes foi alta com a inoculação nos três estádios, principalmente no estágio 2. Em conclusão, ambos os fungos reduzem a germinação e vigor de sementes de milho, e a intensidade da redução depende da época de infecção das flores.

ABSTRACT

ANDRADE, Naira Fernanda Teixeira de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2015. **Germination, force and intensity of corn seed rot at different times of inoculation *Fusarium verticillioides* and *Stenocarpella macrospora*.** Adviser: Luiz Antonio Maffia.

The fungi *Fusarium verticillioides* and *Stenocarpella macrospora* are the pathogens that cause most damage to maize damaged (*Zea mays*). Kernels to expand the knowledge related to the interaction fungus-plant corn, we evaluated the reaction of six hybrids (30K75YH, P2530, P3340YH, BG7061H, P3646YH, and DKB310PRO2), inoculated in three stages related to flowering period (initial when the emission of style-stigma, full flowering 15 days after the initial stage, and final, 30 days after the initial stage). There was no effect of inoculation time on the physiological and sanitary quality of the seeds. In the plants inoculated with *F. verticillioides*, not severity was higher, especially when they were inoculated at stages 2 and 3. Consequently, there was significant reduction in health quality, germination, and vigor. Regarding to *S. macrospora*, the severity of grain rot occurred with inoculation at the three stages, particularly in stage 2. Thus, both fungi studied reduce germination and vigor of maize seeds and the amount of reduction depends on the time of infection of flowers.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial do milho (*Zea mays* L.); plantaram-se 55,4 milhões ha⁻¹ e se produziram 93,6 milhões toneladas em 2012/13 (Conab, 2014). O Paraná é o principal estado produtor com 23,5% da produção, seguido de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul (Brasil, 2009). O milho é uma das culturas mais cultivadas na agricultura familiar, e, principalmente, tem grande importância no agronegócio interno e externo, visando à subsistência e venda local (Cruz *et al.* 2011).

Apesar de o milho ser intensivamente cultivado, a produtividade brasileira é inferior à de outros países, em função de vários fatores, como as doenças, que podem ocorrer em campo e no armazenamento (Duarte *et al.* 2008). Nos últimos anos, a intensidade de doenças na cultura do milho vem aumentando, possivelmente em vista do ambiente favorável a epidemias (Costa, 2009), além dos vários fatores relacionados ao aumento da produção (aumento de área, população de plantas, e disponibilidade hídrica) e do deslocamento da cultura para novas regiões (Oliveira *et al.* 2005).

Entre as doenças do milho, destacam-se as podridões de espiga, que estão associadas à ocorrência de grãos ardidos (Pinto, 2005; Casela *et al.* 2006). *Fusarium verticillioides* e *Stenocarpella macrospora* são fungos importantes associados às podridões de espigas e também causam podridão radicular, morte de plântulas e podridão de colmo (Munkvold, 1997). *Stenocarpella macrospora* geralmente ocorre em todas as regiões produtoras, e pode causar podridão do colmo, podridão branca da espiga e a mancha de diplódia em folhas (Casa, 2006b).

As sementes infectadas podem dispersar o patógeno em áreas de cultivo, sendo fontes de inóculo de doenças. Geralmente as doenças são favorecidas por chuvas no estágio de polinização, mal empalhamento e por injúrias causadas pelos insetos nas espigas, como as lagartas Spodopteras (Zambolim *et al.* 2000).

Vários aspectos epidemiológicos da transmissão de *F. verticillioides* e *S. macrospora* por sementes de híbridos comerciais adotados no Brasil são desconhecidos. Em vista deste desconhecimento, delineou-se o presente trabalho, no qual se objetivou avaliar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de seis híbridos comerciais de milho, inoculadas com *F. verticillioides* e *S. macrospora* em diferentes épocas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura do Milho

O milho, monocotiledônea da família Poaceae, Subfamília Panicoideae (Siloto, 2002), é planta herbácea, monóica e anual. O ciclo da planta, período compreendido entre a sementeira e a colheita dos grãos, é de 120 a 150 dias (Pons, Bresolin, 1981), apesar de poder haver variação e atingir 300 dias (Suwa *et al.* 2010). Nas condições brasileiras, o ciclo varia entre 110 a 180 dias, e os híbridos se diferenciam como super-precoces, precoces e tardios (Fancelli, 2004).

A cultura do milho ocupa uma posição estratégica para o crescimento e desenvolvimento na economia do Brasil. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), há perspectiva de aumento de produtividade, apesar de se estimar redução de 6,6% na área plantada na primeira safra, resultado que vem se repetindo nas últimas seis safras, em média a 5,9% ao ano. Essa redução ocorre, sobretudo, na Região Centro-Sul do país, responsável por 62,6% da área plantada na safra anterior. A queda nesta região é de 11,7% na área cultivada (Conab, 2014).

2.2. Impacto dos patógenos na produção de milho

As sementes de plantas cultivadas podem transportar patógenos, aderidos à superfície, misturados a elas, no interior dos tecidos de reserva ou mesmo do embrião (Abrates, 1987). Assim, a semente torna-se um dos veículos mais eficientes de disseminação de doenças, pois por meio dela os patógenos podem ser transportados a grandes distâncias e introduzidos em novas áreas (Neergaard, 1979). Para Zambolim *et al.* (2000), a semente pode ser fonte de inóculo para as podridões da base do colmo do milho.

No campo, os fungos infectam as sementes durante sua formação e maturação, e usualmente permanecem quiescentes ou podem perder a viabilidade no ambiente de armazenamento (Marcos.Filho,2005). É importante salientar que a maioria dos fitopatógenos pode sobreviver nas sementes por longos períodos de tempo e ser disperso a longas distâncias, e, assim, as sementes podem introduzir patógenos em novas áreas de cultivo.

Os fungos mais frequentemente associados aos grãos ardidos em milho são *F. verticillioides* e *S. macrospora*. Muitos desses fungos causam descoloração dos grãos, redução nos conteúdos de carboidratos, de proteínas e de açúcares totais e podem produzir micotoxinas, o que ocasiona a redução na qualidade e quantidade da produção (Pinto, 2005). Relacionado à qualidade, tem-se os “grãos ardidos”, com tolerância máxima de 2% para a exportação e de 6% para o mercado interno (Pinto, 2007).

2.3. Fitopatógenos associados aos grãos ardidos

Os fungos constituem o grupo mais numeroso e diversificado de fitopatógenos, e causam doenças com sintomas extremamente variáveis e característicos, como amarelecimentos, encharcamentos, manchas, murchas, cancos, dentre outros. Estes microorganismos estão associados às sementes, e afetam sua qualidade fisiológica, como redução de germinação e vigor (Eiras & Galletti, 2012). Muitas dessas espécies, além de causar danos físicos, como descoloração dos grãos, redução nos conteúdos de carboidratos, de proteínas e de açúcares totais, também produzem microtoxinas, o que causa redução na qualidade e quantidade da produção (Pinto, 2005). Dentre os fungos que afetam a qualidade fisiológica, destacam-se *F. verticillioides* e *S. macrospora*, que ocorrem em todas as regiões produtoras de milho, notadamente nos Estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Bahia, Mato Grosso e no Sul (Casela *et al.* 2006). A podridão branca das espigas ou “grãos ardidos” geralmente está associada a *S. macrospora* e *F. verticillioides*, com infecção natural ou mecânica (Bedendo, 1997), principalmente em condições de clima úmido e quente (Agrios, 1997). Ambos, *S. macrospora* e *F. verticillioides*, quando transmitidos em taxas relativamente baixas por sementes, podem causar perdas severas na produção. A infecção por *S. macrospora* e *F. verticillioides* pode resultar em diminuição da população de plantas no campo, como resultado de tombamento de pré ou pós-emergência (Costa *et al.* 2003).

Fusarium verticillioides está associado a todos os estádios de desenvolvimento da planta, e causa danos severos, principalmente nas sementes, onde permanece no tegumento remanescente (Booth, 1971). O fungo é relatado ao redor do mundo como patogênico somente ao milho (Munkvold & O'Mara, 2003) e ocorre frequentemente em sementes e grãos de milho em todas as regiões do Brasil (Ribeiro *et al.* 2015; Nerbass *et al.* 2008). Sabe-se que *F. verticillioides* pode colonizar a planta sistemicamente e atingir as espigas, a partir de sementes infectadas (Wilke *et al.* 2007). O fungo pode, também, estar associado a

tombamento em pré e pós-emergência, podridões de raiz, murchas vasculares e podridão de sementes (Laranjeira, 2001).

Stenocarpella macrospora é diagnosticado com alta frequência em sementes (McGEE, 1998; CASA, 2006a). Como o fungo sobrevive em restos culturais (Marasas & Van Der Westhuizen, 1979; Casa, 2006a) que permanecem na superfície do solo entre estações de cultivo, os restos são fontes de inóculo para as podridões do colmo e da espiga (Ullstrup, 1964; Scott *et al.*, 1994). No campo, os conídios do fungo produzidos nos restos culturais são dispersos pelo vento e podem infectar os grãos de milho (Mário *et al.* 1998), e o inóculo produzido nas lesões foliares, normalmente infecta o colmo e as espigas (Casa, 2000). Na Região Sul, *S. macrospora* está relacionado à baixa germinação de sementes, emergência e estabelecimento de plântulas, podridões do colmo e da espiga (Casa, 2000). O fungo pode causar a morte do embrião; quando ocorre a germinação, a plântula emerge infectada, e seu vigor é comprometido, do início ao fim da maturação (Clayton, 1927; Casa, 2006b).

Ambos, *F. verticillioides* e *S. macrospora*, causam os “grãos ardidos de milho”; sabe-se que a partir da fecundação (duas a três semanas após a polinização) as plantas são mais predispostas à infecção por ambos (Bensch *et al.*, 1992), fato pouco estudado no Brasil. Sementes sadias ou tratadas, rotação de cultura e o plantio de genótipos resistentes são medidas recomendadas para o controle das doenças causadas por *S. macrospora* e *F. verticillioides* (Lucca Filho, 1987; Casa *et al.* 2006b).

2.4. Podridão causada por *Stenocarpella macrospora*

No campo, ocorre apenas a forma anamórfica, com picnídios subepidérmicos, globosos ou alongados, de coloração marrom-escuro a preta e diâmetro entre 150-450 µm; e conídios com 6-13 x 43-95 µm com um a dois septos (Pinto, 2006; Kimati *et al.* 2005).

Na espiga, os sintomas da podridão se iniciam pela base, e a infecção pode ocorrer logo após a polinização. Em geral, as espigas, quando infectadas no estágio de grão leitoso, apodrecem; se infectadas mais tarde, a podridão é reduzida. Grãos colonizados adquirem coloração cinza a marrom (Barbosa, 2010; Fantin & Duarte, 2009), e se observam picnídios como pontos negros no sabugo da espiga. (Kimati *et al.* 2005).

Temperaturas acima de 25°C e alta umidade favorecem a liberação dos conídios a partir dos picnídios produzidos no colmo; os conídios são transportados pelo vento, chuva e por insetos, até a base dos colmos, folhas e espigas (Silva & Schipanki, 2006).

Em geral o patógeno sobrevive como picnídios no solo e/ou restos de cultura, em sementes na forma de conídios e micélio, fontes comuns de inóculo primário (Pinto, 2005).

2.5. Podridão causada por *Fusarium verticillioides*

Fusarium verticillioides é a espécie mais comumente associada à podridão de espiga do milho no Brasil (Reis *et al.* 2004). O fungo produz macroconídios curvos, hialinos, geralmente com três a sete septos, e microconídios abundantes, em cadeia ou em falsas cabeças no micélio (Kimati *et al.* 2005).

Dependendo do genótipo, ambiente e severidade da doença, sintomas da podridão ocorrem em grãos isolados ou agrupados na base das espigas e, com menos frequência, em toda a espiga. Os grãos infectados são marrom-escuros, rosados a avermelhados e, com o avanço da doença, podem ser recobertos por um crescimento cotonoso branco-róseo ou arroxeadado; às vezes o diagnóstico é difícil pois sintomas podem não ocorrer nos grãos infectados. Quando a infecção é tardia, podem ocorrer estrias brancas no pericarpo (Duarte *et al.* 2009; Kimati *et al.* 2005). Segundo Fancelli (2004), *F. verticillioides* causa podridão somente em tecidos senescentes, com baixos níveis de carboidratos e substâncias fungistáticas, o que ocorre em plantas no final de ciclo ou que sofreram estresse.

2.6. Qualidade sanitária das sementes

A qualidade de sementes é muito importante, independentemente de transmitirem patógenos. Sementes infectadas geralmente têm menor vigor e, conseqüentemente, são mais predispostas a fitopatógenos. Assim, a interação de fatores fisiológicos e sanitários na qualidade final das sementes é muito relevante (Embrapa, 2003).

A análise de sementes é útil para obter dados do controle de qualidade, principalmente a partir do final do período de maturação (Abrates, 1987). No teste padrão de germinação determina-se o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, e pode ser usado para comparar a qualidade fisiológica de diferentes lotes e também estimar o valor para semeadura em campo (Brasil, 2009). Usam-se os testes de vigor para determinar a qualidade fisiológica de sementes. Como fornecem índices mais relacionados à qualidade fisiológica que o teste de germinação, qualquer evento que reduza o poder germinativo pode servir como base para avaliar o vigor. Considera-se que, quanto mais próximo da maturidade fisiológica estiver a semente, mais sensível será o teste (Krzyzanowski, 1999).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Implantou-se o experimento em maio de 2014, em laboratórios e área de campo da Estação de Pesquisa da Du Pont do Brasil SA Divisão Pioneer Sementes, Itumbiara (EPDPPI) - GO (18°19'53''S, 49°12'05'' W), com altitude de 500 m. Segundo a classificação internacional de Köppen (1948), o clima é considerado AW definido como tropical, de temperaturas elevadas, chuvas no verão e seca no inverno. No local, as médias das máximas estão entre 29° e 35° C e as das mínimas entre 19° e 25°C. A precipitação pluviométrica média anual na estação meteorológica da EPDPPI é de aproximadamente 1150 mm.

O solo da área experimental, o solo é latossolo vermelho escuro distrófico (oxissolo vermelho escuro), onde se pratica a sucessão de culturas, normalmente milho após milho.

O experimento foi em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial (seis híbridos x inoculação/não x três épocas de inoculação) e quatro repetições. A unidade experimental foi uma linha de plantio com 5m de comprimento e 15 plantas. As unidades experimentais foram espaçadas de 0,75m, 0,80m de corredor.

Usaram-se seis híbridos simples, cinco da Pioneer (30K75YH, P2530, P3340YH, BG7061H e P3646YH) e um da Monsanto (DKB310PRO2), considerados medianamente suscetíveis a *F. verticillioides* e a *S. macrospora*. Efetuou-se plantio direto, em área irrigada por aspersão.

Para o plantio utilizou-se, uma semeadora manual tipo matraca. Aplicou-se glifosato e se efetuaram adubações de base e de cobertura com nitrogênio e os tratos culturais conforme preconizado para a cultura pelo departamento agrônômico da EPDPPI. Não se aplicaram fungicidas para controle de quaisquer doenças da cultura.

3.1. Isolados e multiplicação de *Fusarium verticillioides* e *Stenocarpella macrospora*

Obtiveram-se os isolados de *F. verticillioides* e de *S. macrospora* de sementes de milho na EPDPPI, por meio do isolamento em meio de batata-dextrose-agar (BDA) em placas de Petri. Após o isolamento, transferiram-se discos de micélio de *F. verticillioides* para BDA e de *S. macrospora* para meio de aveia (20 g de ágar e 30 g de farinha de aveia/L água destilada) (Silva & Juliatti, 2005), em placas de Petri, que permaneceram a 24±2°C, sob lâmpadas fluorescentes, fotoperíodo de 12h, durante 30 dias.

3.2. Inoculação

Inoculou-se cada patógeno em três épocas: no início do florescimento, 15 dias após e 30 dias após a emissão de flor feminina.

Para preparo da suspensão de inóculo, raspou-se superficialmente a colônia de cada fungo, filtrou-se e, com auxílio de câmara de Neubauer, ajustou-se a suspensão para 4×10^4 conídios.ml⁻¹. Inoculou-se *F. verticillioides* aspergindo-se 5 ml da suspensão de conídios no estilo-estígma (Fig. 1). Para *S. macrospora*, depositaram-se 5 ml da suspensão na bainha foliar, atrás da espiga, com uma seringa dosadora de alimentação automática (Fig. 2). A concentração de conídios e a metodologia de inoculação seguiram o protocolo desenvolvido pela Pioneer Hi-bred Internacional – USA.

A



B



Figura 1. Inoculação de espigas de milho com: **A.** *Fusarium verticillioides* e **B.** *Stenocarpella macrospora*

Inoculou-se em agosto/setembro de 2015, quando as condições eram favoráveis aos dois patógenos, temperatura média 22°C e umidade relativa do ar de aproximadamente 80% (Fig. 3).

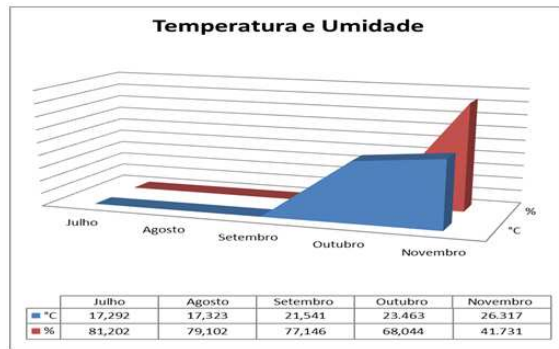


Figura 3. Temperatura e umidade relativa do ar durante a execução dos experimentos, obtidos na Estação Meteorológica, localizada na Estação de Pesquisa da Du Pont Pioneer Sementes de Itumbiara.

Para propiciar condições favoráveis a cada doença, a partir do florescimento, na área experimental instalou-se um sistema de aspersão que era ligado por 60 min, a intervalos de 4 h, o que promovia a formação de neblina e molhamento das espigas.

3.3. Avaliações

Aos 45 dias após a inoculação, quando as espigas estavam maduras fisiologicamente, consideradas com 14% de umidade em média, avaliou-se a incidência das espigas doentes (IncP), definida como a porcentagem de espigas com podridão causada por *F. verticillioides* e porcentagem de espigas com podridão causada por *S. macrospora*. Avaliou-se, também, a severidade de cada doença (Sev), por meio da escala diagramática de Azevedo & Leite (1995), com notas correspondentes a porcentagem de sementes infectadas: 1= 1%, 2= 10%, 3= 20%, 4= 30% e 5≥ 50% de sementes infectadas (Figura 4).

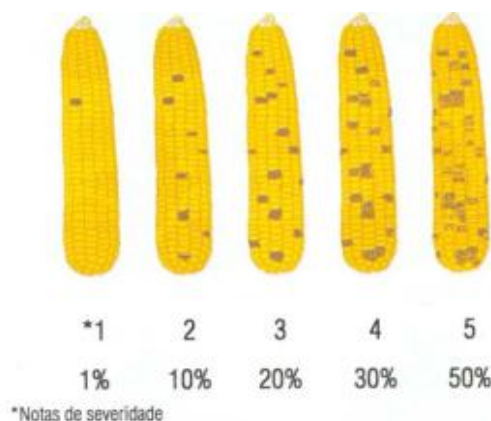


Figura 4. Escala diagramática usada para avaliar a severidade das podridões de espigas, causadas por *Fusarium verticillioides* ou *Stenocarpella macrospora* (Azevedo & Leite, 1995)

Realizada a avaliação de severidade e incidência, as espigas foram colhidas, debulhadas e as sementes submetidas às análises de sanidade, germinação e vigor, no Laboratório de Sementes da EPDPPI. Realizou-se a avaliação da qualidade sanitária segundo o Manual de Análise Sanitária de Sementes (Brasil, 2009). Adotou-se o método de papel filtro (teste de blotter). Sequencialmente, passou-se uma amostra de 400 sementes infectadas em álcool 70% por 30 s, hipoclorito de sódio a 2%, por 2 min, e em água destilada e esterilizada (ADE).

Dispuseram-se 25 sementes, tomadas ao acaso, sobre três folhas de papel-filtro esterilizados, embebidas em ADE, em caixas do tipo gerbox. Mantiveram-se as caixas em incubadora a 25°C, fotoperíodo de 12h. Após 24 h, transferiram-se as caixas para freezer a -20°C por 3-5h onde as mesmas foram congeladas, inibindo assim o processo de germinação. Após 5 dias incubadas, as sementes foram examinadas sob microscópios estereoscópico, determinando a porcentagem de infectadas por *F. verticillioides* e/ou por *S. macrospora* (IncS).

Avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes infectadas por meio de Testes de Germinação (Germ) e Vigor. Realizou-se o teste de germinação em câmara de germinação, a 25°C, conforme as Regras para Análises de Sementes-RAS (Brasil, 2009). Para cada híbrido, depositaram-se as sementes infectadas com cada patógeno em papel germitest no sistema rolo, umedecido com água, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel, durante 4 e 7 dias.

Efetuuou-se o teste de vigor a baixa temperatura com substrato de areia + caulim distribuído em papel germitest previamente umedecido, sobre bandejas, com quatro repetições de 100 sementes por tratamento. Depositaram-se as sementes infectadas, embrião voltado para baixo, sobre o substrato, mantendo-as a 10°C durante 4 dias em câmara climatizada, seguidos de 3 dias em câmara de germinação a 25°C.

Os testes de germinação e vigor foram avaliados conforme as Regras para Análises de Sementes-RAS (Brasil, 2009): contou-se o número de plântulas normais na amostra e se obteve a porcentagem média (Fig. 5).



Figura 5. Classificação de plântulas de milho no teste de vigor: normais (as com marcas em verde) e anormais (com marcas em vermelho)

3.4. Análises Estatísticas

Efetuaram-se teste de correlação de Pearson, análise de variância e teste de Tukey. Para os dois últimos, transformaram-se os dados em $\text{arc sen}(\sqrt{x}/100)$. Em todas as análises, usou-se o programa SAS versão 9.1.

4. RESULTADOS

4.1. Intensidade das doenças, germinação e vigor de sementes de plantas de seis híbridos de milho inoculadas com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*

Para se visualizar as tendências obtidas a partir da inoculação dos dois patógenos, preparou-se um tabela geral (Tabela 1). Em geral, as variáveis associadas à intensidade das respectivas doenças (Sev, IncPl e IncS) foram similares para os dois patógenos. Entretanto, as variáveis associadas à qualidade das sementes (Germ e Vigor) foram menores quando se inoculou *S. macrospora*.

Tabela 1. Variáveis obtidas de experimentos de campo, com inoculação de *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides* em plantas de seis híbridos de milho, em três épocas: 1 (florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após). Médias (desvios padrão) de quatro repetições, em percentagem

Época	Inoculação	<i>Stenocarpella macrospora</i>						<i>Fusarium verticillioides</i>					
		30K75YH	BG7061H	MFRDKB	P2530	P3340YH	P3646YH	30K75YH	BG7061H	MFRDKB	P2530	P3340YH	P3646YH
Híbrido													
Severidade de doença nas espigas													
1	Sim	50,00 (0,00)	35,00 (10,00)	50,00 (0,00)	45,00 (10,00)	30,00 (0,00)	45,00 (10,00)	15,00 (5,77)	25,00 (5,77)	10,25 (7,76)	22,50 (18,93)	20,00 (8,16)	17,50 (5,00)
	Não	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	3,25 (4,50)	3,25 (4,50)	1,00 (0,00)	2,50 (5,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	3,25 (4,50)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)
2	Sim	30,00 (0,00)	22,50 (9,57)	45,00 (10,00)	50,00 (0,00)	25,00 (5,77)	30,00 (14,14)	25,00 (5,77)	30,00 (0,00)	20,00 (8,16)	37,50 (15,00)	27,50 (5,00)	27,50 (5,00)
	Não	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	3,25 (4,50)	3,25 (4,50)	1,00 (0,00)
3	Sim	22,50 (9,57)	12,50 (5,00)	20,00 (8,16)	15,00 (5,77)	22,50 (18,93)	15,00 (5,77)	25,00 (10,00)	30,00 (0,00)	27,75 (20,17)	37,50 (15,00)	50,00 (0,00)	35,00 (10,00)
	Não	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	5,50 (5,20)	1,00 (0,00)
Incidência de doença nas espigas													
1	Sim	14,50 (1,00)	9,25 (2,87)	13,00 (1,15)	9,50 (2,65)	10,50 (3,32)	12,25 (1,50)	4,00 (1,83)	5,50 (2,08)	2,00 (2,00)	3,75 (3,77)	5,00 (2,00)	4,00 (1,41)
	Não	1,75 (0,96)	0,50 (0,58)	1,25 (0,50)	1,00 (0,00)	1,00 (0,82)	0,25 (0,50)	1,50 (0,58)	0,75 (0,50)	0,25 (0,50)	0,50 (1,00)	0,50 (0,58)	0,25 (0,50)
2	Sim	8,00 (0,82)	2,25 (0,96)	10,00 (1,41)	6,75 (2,36)	5,75 (1,26)	5,25 (0,96)	4,75 (1,26)	5,50 (1,29)	3,25 (1,89)	6,00 (3,16)	7,75 (2,75)	3,25 (0,96)
	Não	1,00 (0,82)	1,25 (0,50)	1,25 (0,50)	1,25 (1,50)	0,50 (0,58)	0,75 (0,96)	1,25 (0,96)	1,00 (0,82)	0,50 (1,00)	0,75 (0,96)	1,00 (0,82)	0,50 (0,58)
3	Sim	3,75 (1,71)	1,50 (1,00)	3,75 (1,26)	1,75 (0,50)	4,50 (2,38)	2,00 (1,15)	6,75 (4,11)	6,50 (2,38)	7,50 (5,07)	7,25 (4,11)	15,25 (3,40)	8,75 (2,87)
	Não	0,25 (0,50)	0,25 (0,50)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,25 (0,50)	0,00 (0,00)	1,00 (0,82)	1,00 (0,82)	2,00 (1,63)	0,50 (0,58)	2,00 (1,41)	2,00 (1,63)
Incidência de doença nas sementes													
1	Sim	90,75 (1,71)	72,25 (3,59)	91,75 (1,71)	91,00 (2,16)	93,25 (3,50)	93,25 (2,99)	60,50 (3,42)	75,00 (3,58)	59,00 (2,58)	91,75 (4,19)	43,88 (3,75)	72,00 (2,94)
	Não	11,00 (1,83)	12,75 (2,75)	9,75 (2,50)	43,00 (2,58)	9,00 (2,16)	16,00 (5,16)	19,25 (3,77)	14,25 (2,50)	10,75 (1,71)	26,00 (3,37)	14,00 (2,58)	31,25 (3,40)
2	Sim	21,50 (4,80)	48,75 (3,30)	83,62 (2,29)	30,25 (2,50)	93,75 (1,71)	27,00 (5,48)	14,88 (2,39)	63,88 (3,17)	70,50 (2,08)	79,25 (13,45)	64,75 (3,40)	60,75 (3,86)
	Não	14,38 (1,11)	7,62 (1,38)	7,50 (2,08)	8,75 (2,75)	13,00 (3,16)	6,75 (1,71)	8,00 (1,83)	23,00 (7,26)	33,75 (6,24)	58,25 (8,06)	16,50 (1,91)	15,00 (0,00)
3	Sim	94,88 (4,52)	39,50 (4,04)	62,00 (3,16)	54,00 (2,58)	48,12 (2,53)	41,62 (2,69)	72,50 (3,70)	74,75 (4,57)	72,38 (6,87)	82,75 (7,37)	85,75 (3,40)	86,25 (3,88)
	Não	7,62 (1,38)	9,75 (2,22)	12,62 (2,75)	12,88 (3,17)	9,75 (2,22)	14,88 (2,32)	6,75 (1,71)	29,00 (3,16)	29,00 (5,48)	42,00 (6,58)	14,75 (1,71)	7,25 (1,71)
Germinação das sementes													
1	Sim	8,75 (11,21)	22,50 (6,86)	22,25 (12,92)	17,75 (24,10)	26,25 (20,39)	24,25 (14,66)	93,00 (6,88)	89,75 (3,50)	93,75 (9,22)	89,25 (10,84)	96,50 (1,73)	96,75 (0,96)
	Não	84,25 (9,39)	91,00 (6,06)	97,25 (2,22)	82,00 (21,21)	92,00 (5,29)	97,50 (1,29)	90,50 (11,73)	95,75 (2,75)	96,75 (3,40)	97,00 (1,00)	95,00 (4,55)	97,50 (1,29)
2	Sim	26,00 (27,07)	36,50 (39,14)	40,25 (35,17)	44,25 (36,04)	38,00 (30,76)	54,75 (19,87)	92,25 (2,22)	85,25 (13,38)	66,75 (21,98)	82,75 (9,22)	94,75 (3,86)	89,00 (3,16)
	Não	85,75 (4,57)	92,75 (2,36)	94,50 (3,70)	78,50 (30,52)	79,75 (7,80)	96,50 (0,58)	95,50 (2,38)	89,75 (2,99)	94,75 (2,06)	95,75 (2,06)	97,25 (0,50)	96,00 (2,45)
3	Sim	10,00 (5,29)	68,75 (33,03)	33,25 (22,60)	58,00 (16,37)	39,75 (13,05)	45,00 (26,27)	90,00 (5,10)	70,50 (12,29)	79,75 (6,40)	81,75 (16,36)	73,75 (10,37)	72,50 (7,55)
	Não	83,75 (9,22)	89,50 (8,35)	94,25 (2,75)	93,33 (3,21)	85,75 (9,22)	83,00 (9,09)	95,00 (2,45)	81,50 (13,87)	86,25 (8,30)	86,75 (6,18)	91,50 (6,86)	91,25 (2,06)
Vigor das sementes													
1	Sim	18,25 (23,37)	22,50 (7,14)	21,25 (16,78)	13,25 (14,82)	24,75 (17,17)	19,25 (11,09)	79,75 (7,14)	81,00 (4,08)	86,75 (8,73)	75,25 (12,76)	90,75 (3,69)	81,75 (5,12)
	Não	73,00 (6,68)	84,00 (7,62)	88,75 (2,87)	93,00 (NA)	90,00 (4,32)	88,75 (7,09)	84,00 (12,19)	87,75 (5,12)	79,50 (15,93)	85,67 (7,77)	90,00 (2,00)	90,75 (3,59)
2	Sim	25,75 (14,43)	33,00 (23,12)	44,25 (36,04)	18,50 (11,21)	36,00 (33,68)	30,25 (15,31)	66,25 (13,77)	46,00 (13,95)	63,50 (12,15)	66,50 (11,85)	76,75 (1,71)	65,75 (9,88)
	Não	78,67 (2,08)	72,00 (13,39)	79,00 (30,90)	51,75 (25,79)	73,25 (6,34)	84,25 (9,43)	80,50 (6,24)	63,50 (9,54)	75,75 (9,18)	82,25 (8,54)	86,50 (6,19)	79,25 (7,46)
3	Sim	15,75 (4,57)	54,00 (30,71)	39,75 (13,52)	43,00 (21,07)	42,25 (5,62)	47,25 (21,82)	87,25 (1,26)	61,25 (11,95)	72,75 (5,12)	70,75 (14,10)	75,50 (6,86)	69,25 (7,32)
	Não	83,25 (6,85)	83,25 (6,18)	91,25 (3,30)	80,75 (2,87)	85,50 (6,61)	88,25 (7,80)	88,50 (2,65)	74,00 (13,34)	73,25 (16,68)	78,00 (11,17)	86,00 (8,98)	85,50 (6,24)

Compararam-se as variáveis associadas aos patógenos por meio de análise de variância (ANOVA). Efetuou-se a ANOVA para cada patógeno e variável, considerando-se os efeitos: individuais da época de inoculação (E), híbrido (H) e inoculação (I); das interações duplas ExM, ExI e MxI; e o da interação tripla ExMxI. Interações triplas altamente significativas ($p \leq 0,01$) ocorreram para IncS com ambos os patógenos. As interações duplas significativas foram: E*H para IncS com ambos os patógenos, bem como para Germ e Vigor com *F. verticillioides*; E*I para Sev e IncS com ambos os patógenos, bem como para IncP, Germ e Vigor com *S. macrospora*; e H*I para IncS com ambos os patógenos, bem como para Sev e IncP com *S. macrospora*. Efeitos individuais altamente significativos ocorreram para a maioria das variáveis (Tabela 2). Apesar de ocorrer interação tripla significativa para InS, estudar-se-ão as interações duplas significativas, para uniformizar as comparações. Ademais, relatar-se-ão apenas as situações em que $p \leq 0,01$.

Tabela 2. Nível de significância (p) dos efeitos de época de inoculação (E), híbrido (H) e da inoculação (I), das interações duplas E*H, E*I e H*I e da interação tripla E*M*I, obtidos em experimentos com plantas de seis híbridos de milho inoculadas com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*, no início do florescimento e aos 15 e 30 dias após, em Itumbiara GO. Para cada patógeno, avaliaram-se: severidade da doença em plantas (Sev), incidência em plantas (IncP) e em sementes (IncS), germinação (Germ) e Vigor das sementes

Patógeno	Variável	Efeito						
		E	H	I	E*H	E*I	H*I	E*H*I
<i>S. macrospora</i>	Sev	<0,01*	<0,01	<0,01	0,09	<0,01	<0,01	0,04
	IncP	<0,01	<0,01	<0,01	0,16	<0,01	<0,01	0,04
	IncS	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	Germ	0,05	<0,01	<0,01	0,36	<0,01	0,26	0,78
	Vigor	<0,01	0,06	<0,01	0,63	<0,01	0,76	0,79
<i>F. verticilloides</i>	Sev	<0,01	<0,01	<0,01	0,28	<0,01	0,10	0,92
	IncP	<0,01	<0,01	<0,01	0,06	0,11	0,16	0,98
	IncS	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	Germ	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,06	0,45	0,08
	Vigor	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,08	0,28	0,91

*Nos valores sombreados, $p \leq 0,01$

4.1.1. Análises relacionadas a *Stenocarpella macrospora*

Como mencionado, detectaram-se interações duplas significativas nas combinações: E*H para IncS; E*I para todas as variáveis; e H*I para sev, IncP e IncS (Tabela 2).

Quanto à interação E*H, os híbridos não diferiram quanto a IncS em todas as épocas de inoculação. Quando se fixou o efeito de híbridos, as épocas diferiram entre si: em

três híbridos, na época 2 os valores médios de IncS foram menores que na época 1 (Tabela 3).

Tabela 3. Médias de incidência de doença em sementes, em plantas de seis híbridos de milho inoculadas com *Stenocarpella macrospora* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))]

Época	Híbrido											
	30K75YH		BG7061H		MFRDKB		P2530		P3340YH		P3646YH	
1	0,80*	a	0,69	a	0,80	a	0,99	a	0,81	a	0,86	a
2	0,43	b	0,53	a	0,72	a	0,44	b	0,84	a	0,40	b
3	0,82	a	0,50	a	0,63	a	0,60	ab	0,54	a	0,55	ab

*Para cada híbrido, as médias estimadas nas épocas seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$). As médias dos híbridos não diferiram significativamente entre si em todas as épocas de inoculação.

Para todas as variáveis, o efeito da interação E*I foi significativo; maiores médias ocorreram com inoculação que sem inoculação (Tabela 4). Em geral, as médias de Sev, IncP e IncS foram menores, enquanto as de Germ e Vigor foram maiores, sem inoculação. Maiores médias de Sev, IncP e IncS quando se inoculou no início do florescimento (época 1), enquanto as de Germ e Vigor e foram maiores na época 3 que na 1 (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de severidade de doença (Sev), incidência de doença em plantas (incP), incidência de doença em sementes (incS), germinação (Ger) e Vigor de sementes, em híbridos de milho inoculados ou não com *Stenocarpella macrospora* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].

Variável	Inoculação	Época de inoculação					
		1		2		3	
Sev	Não	0,11	a*	0,10	a	0,10	a
	Sim	0,70	a	0,61	b	0,42	c
IncP	Não	0,08	a	0,08	a	0,01	b
	Sim	0,34	a	0,24	b	0,16	c
IncS	Não	0,40	a	0,31	a	0,33	a
	Sim	1,24	a	0,80	b	0,87	b
Germ	Não	1,30	a	1,24	a	1,23	a
	Sim	0,42	b	0,66	a	0,69	a
Vigor	Não	1,19	a	1,04	b	1,18	a
	Sim	0,41	b	0,57	ba	0,68	a

*Para cada variável, médias seguidas da mesma letra na horizontal não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$). Para todas as variáveis, houve efeito significativo de inoculação ($p<0,01$).

O efeito da interação H*I foi significativo para Sev, IncP e IncS. As médias de Sev e IncP foram estatisticamente maiores com inoculação que sem inoculação do patógeno (Tabela

5). Sem inoculação, os híbridos diferiram quanto à IncS, mas não quanto à Sev e IncP. A média de IncS foi maior em P2530 e menor em 30K75YH, BG7061H, MFRDKB e P3340YH (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de severidade, incidência de doença em plantas (incP) e de incidência de doença em sementes (incS), em plantas de seis híbridos de milho inoculadas ou não com *Stenocarpella macrospora*, em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].

Variável	Inoculação	Híbrido											
		30K75YH	BG7061H	MFRDKB	P2530	P3340YH	P3646YH						
Sev	Não	0,10	a*	0,10	a	0,12	a	0,12	a	0,10	a	0,09	a
	Sim	0,62	a	0,49	a	0,66	a	0,64	a	0,52	a	0,57	a
IncP	Não	0,08	a	0,06	a	0,07	a	0,06	a	0,05	a	0,03	a
	Sim	0,29	a	0,19	a	0,29	a	0,23	a	0,26	a	0,24	a
IncS	Não	0,33	b	0,32	b	0,32	b	0,46	a	0,33	b	0,35	ab
	Sim	1,04	a	0,82	a	1,11	a	0,89	a	0,13	a	0,85	a

*Para cada variável, médias seguidas da mesma letra na horizontal não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$). Para todas as variáveis e híbridos, houve efeito significativo de inoculação ($p < 0,01$).

Os híbridos diferiram quanto à germinação de sementes: maiores médias ocorreram em P3646YH, BG7061H, MFRDKB, e a menor em 30K75YH (Tabela 6).

Tabela 6. Médias de germinação de sementes de híbridos de milho inoculados com *Stenocarpella macrospora*. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].

Híbrido	Germinação
P3646YH	1,00 a
BG7061H	0,98 a
MFRDKB	0,98 a
P3340YH	0,91 ab
P2530	0,89 ab
30K75YH	0,75 b

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$).

4.1.2. Análises relacionadas a *Fusarium verticillioides*

Como mencionado, detectaram-se interações duplas significativas nas combinações: E*H para IncS, Germ e Vigor; E*I para Sev e IncS; e H*I para IncS (Tabela 2).

Quanto à interação E*H (Tabela 7), na época 1 de inoculação, independentemente da variável avaliada, os híbridos não diferiram entre si. Na época 2, quanto à IncS, maior média ocorreu em P2530 e menores médias em 30K75YH e P3646YH; quanto à Germ, a média foi maior em P3340YH que em MFRDKB; quanto ao Vigor, as médias em 30K75YH, P2530 e P3340YH foram maiores que em BG7061H. Na época 3, os híbridos não diferiram quanto à IncS; as média de Germ e Vigor em 30K75YH foram maiores que em BG7061H (Tabela 7).

Compararam-se, também, as épocas dentro de híbridos. Para IncS, não houve diferença entre as médias de épocas em todos os híbridos. Para Germ, houve diferença entre épocas em quatro híbridos: BG7061H (média da época 1 maior que da 3), MFRDKB (média da época 1 maior que das 2 e 3), P3340YH (média da época 1 maior que das 2 e 3) e P3646YH (médias das épocas 1 e 2 maiores que da 3). Para Vigor, também houve diferença entre épocas em quatro híbridos: 30K75YH (médias das épocas 1 e 3 maiores que da 2), BG7061H (média da época 1 maior que das 2 e 3), P3340YH (média da época 1 maior que das 2 e 3) e P3646YH (médias das épocas 1 e 3 maiores que da 2) (Tabela 7).

Tabela 7. Médias de incidência de doença em sementes (incS), germinação (Ger) e Vigor de sementes, em seis híbridos de milho inoculados com *Fusarium verticillioides* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc $[(\text{sen}(\sqrt{\%/100})]$.

Variável	Época	Híbrido											
		30K75YH		BG7061H		MFRDKB		P2530		P3340YH		P3646YH	
IncS	1	0,67	aA*	0,71	aA	0,60	aA	0,91	aA	0,55	aA	0,80	aA
	2	0,34	aC	0,71	aAB	0,80	aAB	0,99	aA	0,67	aAB	0,64	aBC
	3	0,64	aA	0,80	aA	0,79	aA	0,92	aA	0,79	aA	0,73	aA
Germ	1	1,30	aA	1,31	aA	1,39	aA	1,31	aA	1,37	aA	1,40	aA
	2	1,32	aAB	1,22	abAB	1,15	bB	1,26	aAB	1,38	aA	1,30	aAB
	3	1,30	aA	1,07	bB	1,15	bAB	1,18	aAB	1,16	bAB	1,14	bAB
Vigor	1	1,14	abA	1,17	aA	1,17	aA	1,11	aA	1,25	aA	1,19	aA
	2	1,03	bA	0,83	bB	0,99	aAB	1,05	aA	1,13	bA	1,02	bAB
	3	1,21	aA	0,97	bB	1,03	aAB	1,05	aAB	1,12	bAB	1,08	abAB

*Para cada variável, médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e da mesma letra maiúscula na horizontal não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$).

O efeito da interação E*I foi significativo para Sev e IncS (Tabela 2). As médias de ambas as variáveis foram estatisticamente maiores com a inoculação que sem a inoculação de *F. verticillioides*. Quando se inoculou o patógeno, as médias de Sev e IncS foram maiores na época 3 que na 1 (Tabela 8).

Tabela 8. Médias de severidade de doença (Sev) e de incidência de doença em sementes (incS), em híbridos de milho inoculados ou não com *Fusarium verticillioides* nas épocas 1 (início do florescimento), 2 (15 dias após) e 3 (30 dias após), em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].

Variável	Inoculação	Época de inoculação					
		1		2		3	
Sev	Não	0,11	a*	0,12	a	0,12	a
	Sim	0,43	b	0,55	a	0,61	a
IncS	Não	0,45	a	0,51	a	0,46	a
	Sim	0,97	b	0,88	b	1,10	a

*Para cada variável, as médias seguidas da mesma letra na horizontal não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$). Para todas as variáveis, houve efeito significativo de inoculação ($p < 0,01$).

O efeito da interação H*I foi significativo para IncS (Tabela 3). Independentemente do híbrido, as médias de IncS foram estatisticamente maiores com a inoculação que sem a inoculação de *F. verticillioides*. Em ambas as situações, as médias de IncS diferiram entre os híbridos; maior média ocorreu em P2530 e menor em 30K75YH (Tabela 9).

Tabela 9. Médias de incidência de doença em sementes (IncS) de plantas de híbridos de milho inoculadas ou não com *Fusarium verticillioides*, em Itumbiara-GO. Para a análise estatística, os valores originais (%) foram transformados para arc [(sen ($\sqrt{\%/100}$))].

Inoculação	Híbrido											
	30K75YH		BG7061H		MFRDKB		P2530		P3340YH		P3646YH	
Não	0,33	c	0,48	b	0,51	b	0,70	a	0,40	bc	0,42	bc
Sim	0,77	c	1,01	ab	0,96	bc	1,18	a	0,94	bc	1,03	ab

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (teste de Tukey, $\alpha=0,05$). Para todos os híbridos, houve efeito significativo de inoculação ($p < 0,01$).

4.2. Correlação entre as variáveis avaliadas

Efetuar-se análises de correlação entre as variáveis por patógeno, considerando-se cada época de inoculação (Tabela 10) e cada genótipo (Tabela 11). Mencionar-se-ão apenas os casos em que a correlação foi forte, isto é $r \geq 0,70$, segundo proposta de Figueiredo Filho & Silva Junior (2009). Para ambos os patógenos, nas três épocas de inoculação e nos seis genótipos, houve correlação forte e positiva, e sempre acima de 0,80, apenas para Sev x IncP.

Adicionalmente, considerando-se *S. macrospora*, em todas as épocas e todos os genótipos, houve correlação forte e negativa entre Sev e Germ. Em termos de épocas de inoculação, obtiveram-se correlações fortes entre todas as variáveis no início do florescimento

e 30 dias após. Para os 15 após o florescimento, a correlação foi forte apenas para Germ x Vigor (Tabela 10). Em termos de genótipos, a maioria das correlações entre as variáveis foi forte, excetuando-se: IncP x IncS em 30K75YH; IncP x Germ e Inc x Vigor em BG7061H; e Sev x IncS, IncP x IncS, IncS x Germ e IncS x Vigor em P2530 (Tabela 11).

Considerando-se *F.verticillioides*, a maioria das correlações não foi forte. Em termos de épocas de inoculação, obtiveram-se correlações fortes em Sev x IncS no início do florescimento e 30 dias após, bem como entre IncS x IncP e Germ x Vigor, com a inoculação aos 30 dias após o florescimento (Tabela 10). Em termos de genótipos, além de Sev x IncP, obteve-se correlação forte em BG7061H, MFRDKB, P2530, P3340YH e P3646YH para Sev x IncS e IncP x IncS (Tabela 11).

Tabela 10. Coeficientes de correlação de Pearson entre severidade (Sev), incidência de doença nas espigas (IncP) e nas sementes (IncS), germinação (Germ) e Vigor, em seis híbridos de milho inoculados com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*, no início do florescimento, 15 e 30 dias após, em Itumbiara GO. Em cada época, os valores acima da diagonal principal referem-se a *S. macrospora*; os abaixo, referem-se a *F. verticillioides*. Todos os valores diferem de zero ($\alpha \leq 0,01$)

Época		Sev	IncP	IncS	Germ	Vigor
Início do florescimento	Sev	1,00	0,94	0,92	-0,91	-0,90
	IncP	0,87	1,00	0,91	-0,92	-0,89
	IncS	0,79	0,65	1,00	-0,90	-0,88
	Germ	-0,36	-0,32	-0,29	1,00	0,97
	Vigor	-0,33	-0,17	-0,33	0,57	1,00
15 dias após	Sev	1,00	0,85	0,67	-0,67	-0,68
	IncP	0,84	1,00	0,63	-0,63	-0,55
	IncS	0,66	0,54	1,00	-0,54	-0,41
	Germ	-0,39	-0,30	-0,46	1,00	0,76
	Vigor	-0,47	-0,38	-0,32	0,54	1,00
30 dias após	Sev	1,00	0,94	0,81	-0,76	-0,79
	IncP	0,88	1,00	0,80	-0,75	-0,77
	IncS	0,88	0,76	1,00	-0,83	-0,85
	Germ	-0,45	-0,38	-0,55	1,00	0,93
	Vigor	-0,26	-0,16	-0,43	0,84	1,00

Tabela 11. Coeficientes de correlação de Pearson entre severidade (Sev), incidência de doença nas espigas (IncP) e nas sementes (IncS), germinação (Germ) e Vigor, em seis híbridos de milho inoculados com *Stenocarpella macrospora* ou *Fusarium verticillioides*. Em cada híbrido, os valores acima da diagonal principal referem-se a *S. macrospora*; os abaixo, referem-se a *F. verticillioides*. Todos os valores diferem de zero ($\alpha \leq 0,01$)

Híbrido		Sev	IncP	IncS	Germ	Vigor
30K75YH	Sev	1,00	0,92	0,74	-0,89	-0,85
	IncP	0,84	1,00	0,62	-0,78	-0,78
	IncS	0,64	0,65	1,00	-0,80	-0,77
	Germ	-0,23	-0,25	-0,28	1,00	0,97
	Vigor	-0,24	-0,14	0,10	0,45	1,00
BG7061H	Sev	1,00	0,82	0,94	-0,83	-0,80
	IncP	0,88	1,00	0,81	-0,69	-0,69
	IncS	0,94	0,86	1,00	-0,78	-0,75
	Germ	-0,35	-0,21	-0,42	1,00	0,91
	Vigor	-0,41	-0,26	-0,36	0,60	1,00
MFRDKB	Sev	1,00	0,94	0,97	-0,83	-0,80
	IncP	0,80	1,00	0,91	-0,77	-0,74
	IncS	0,78	0,73	1,00	-0,87	-0,78
	Germ	-0,62	-0,59	-0,56	1,00	0,82
	Vigor	-0,26	-0,17	-0,15	0,66	1,00
P2530	Sev	1,00	0,88	0,63	-0,74	-0,83
	IncP	0,93	1,00	0,69	-0,82	-0,76
	IncS	0,72	0,75	1,00	-0,67	-0,59
	Germ	-0,36	-0,36	-0,32	1,00	0,83
	Vigor	-0,45	-0,34	-0,33	0,64	1,00
P3340YH	Sev	1,00	0,89	0,88	-0,79	-0,75
	IncP	0,95	1,00	0,86	-0,84	-0,81
	IncS	0,95	0,91	1,00	-0,80	-0,81
	Germ	-0,52	-0,53	-0,52	1,00	0,98
	Vigor	-0,48	-0,51	-0,59	0,57	1,00
P3646YH	Sev	1,00	0,94	0,78	-0,78	-0,87
	IncP	0,84	1,00	0,83	-0,74	-0,85
	IncS	0,91	0,75	1,00	-0,77	-0,74
	Germ	-0,61	-0,65	-0,48	1,00	0,91
	Vigor	-0,69	-0,53	-0,49	0,61	1,00

5. DISCUSSÃO

O milho é intensivamente cultivado no Brasil, onde a produtividade é inferior à de outros países, em vista de vários fatores, como as doenças, que ocorrem no campo e no armazenamento (Duarte et al., 2008). Entre as doenças, destacam-se as podridões de espiga, associadas à ocorrência de grãos ardidos, causadas principalmente por *F. verticillioides* e *S. macrospora* (Bedendo, 1997; Pinto, 2005; Casela et al., 2006, Casa, 2006b). As podridões causadas por ambos os patógenos, apesar de reduzirem a produtividade do milho no Brasil, ainda são pouco estudadas. Reconhece-se a importância de sementes na dispersão dos patógenos, mas desconhecem-se aspectos etiológicos e epidemiológicos das doenças que causam. Neste contexto, avaliou-se a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de seis híbridos comerciais, considerados medianamente suscetíveis *F. verticillioides* e *S. macrospora*, inoculados com os patógenos em diferentes épocas.

Em geral, as variáveis associadas à intensidade das podridões causadas por *F. verticillioides* e *S. macrospora* foram similares para ambos. Apesar de ambos os patógenos reduzirem a qualidade das sementes, na maioria das vezes, Germ e Vigor foram menores que 50% quando se inoculou *S. macrospora* e maiores que 80% quando se inoculou *F. verticillioides*. Apesar de *F. verticillioides* ser a espécie mais comumente associada à podridão de espiga no Brasil (Reis et al., 2004), os danos causados por *S. macrospora* foram maiores.

Na área experimental adota-se a sucessão de culturas, normalmente milho após milho. Adicionalmente, efetuou-se o plantio direto, irrigou-se por aspersão e não se aplicaram quaisquer fungicidas. Considerando que ambos os patógenos estudados sobrevivem em restos culturais e são dispersos por respingos de água (Silva, & Schipanski, 2006; Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979; Casa, 2006a; Ullstrup, 1964; Scott *et al.*, 1994, Mário et al., 1998), não foi surpresa a ocorrência das respectivas doenças nas plantas não inoculadas. Entretanto, as inoculações artificiais foram efetivas, pois a intensidade (Sev, Incp e Incs) das respectivas doenças foi significativamente maior e a qualidade das sementes (Germ e Vigor), menor, nas parcelas inoculadas que nas não inoculadas. Assim, não se discutirá mais o efeito da inoculação.

Com ambos os patógenos, efeitos individuais altamente significativos ocorreram para a maioria das variáveis, isto é, a época de inoculação e o híbrido adotado afetaram a intensidade da cada doença e a qualidade das sementes. Como os efeitos individuais são

determinados pelas interações, discutir-se-ão as interações duplas significativas: E*H para IncS, com ambos os patógenos, e para Germ e Vigor, com *F. verticillioides*; E*I para Sev e IncS, com ambos os patógenos, e para IncP, Germ e Vigor, com *S. macrospora*; e H*I para IncS, com ambos os patógenos, e para Sev e IncP, com *S. macrospora*.

Para a podridão causada por *S. macrospora*, em nenhuma das três épocas, os híbridos diferiram quanto às variáveis associadas à intensidade de doença. Adotaram-se híbridos moderadamente suscetíveis, os quais, realmente, não diferiram, apesar de se conhecer resistência diferenciada de híbridos a *S. macrospora* (Mario et al., 2003). Aparentemente, houve tendência de os híbridos diferirem na tolerância à podridão, pois Germ foi maior em P3646YH, BG7061H, MFRDKB e 30K75YH, fato que precisa ser mais bem investigado. Houve diferença entre épocas de inoculação: em 30K75YH, P2530 e P3646YH, na época 1, IncS foi maior que na 2; Sev, IncP e IncS foram maiores na época 1 que na 3; Germ e Vigor foram maiores na época 3 que na 1. Assim, houve tendência de ocorrerem maiores danos em espigas inoculadas no início do florescimento. Se essa tendência se repetir em trabalhos futuros, quanto mais cedo a inoculação do patógeno, maiores danos nas espigas. Sabe-se que a infecção por *Stenocarpella* spp. ocorre principalmente no período de duas a três semanas após a polinização (Reis et al., 2004). Entretanto, independentemente da época em que se inoculou o patógeno, houve redução significativa da qualidade das sementes. Alta severidade da doença em espigas reduz a germinação e vigor das sementes. Vale frisar que o fungo pode ser disperso por sementes. Assim, as espigas com danos menos severos, mais dificilmente separáveis em unidades de beneficiamento, podem gerar sementes infectadas, que podem germinar e gerar plantas doentes, o que aumenta o potencial de transmissão para novas áreas.

Quanto à podridão causada por *F. verticillioides*, na época 1, os híbridos não diferiram entre si considerando-se quaisquer variáveis. Na época 2, IncS foi maior em P2530 que em 30K75YH e P3646YH; Germ foi maior em P3340YH que em MFRDKB; Vigor foi maior em 30K75YH, P2530 e P3340YH que em BG7061H. Na época 3, Germ e Vigor foram maiores em 30K75YH que em BG7061H. Aparentemente, houve diferença entre os híbridos quanto à resistência, fato já constatado (Mendes et al. 2004). Também houve diferença entre as épocas de inoculação: em BG7061H, MFRDKB, P3340YH e P3646YH, na época 1, Germ foi maior que na 3; em BG7061H e P3340YH, na época 1, o Vigor foi maior que na 3. Em 30K75YH e P3646YH, na época 1, o Vigor foi maior que na 2. Independentemente de se inocular ou não o patógeno, Sev e IncS foram maiores na época 3 que na 1. Já se verificou que a infecção de grãos inicia-se dentro de 4 a 5 semanas após a polinização (Bush et al., 2004) e o número de grãos infectados aumenta de 9 a 10 semanas após a polinização (Bush et

al., 2004; King, 1981). No presente estudo, também ocorreu a tendência de a intensidade de doença aumentar à medida que as espigas amadurecessem. Esse aspecto, pouco estudado no Brasil, demanda maiores estudos.

Para ambos os patógenos, nas três épocas de inoculação e nos seis genótipos, houve correlação forte de Sev e IncP. Esse fato, já conhecido em outros patossistemas (Madden et al., 2007), é importante em estudos epidemiológicos. Como a incidência de espigas doentes é mais facilmente quantificável e menos sujeita a erros que a severidade, em estudos de manejo de ambas as doenças no campo, inclusive naqueles de resistência de genótipos, pode-se avaliar a incidência em espigas. Demandam-se estudos subsequentes para se validar esta afirmativa.

Para *S. macrospora*, em todas as épocas e genótipos, Sev e Germ correlacionaram-se negativamente. Assim, com aumento da severidade, reduz-se a germinação das sementes. Sabe-se que o fungo ocorre frequentemente em sementes, reduzindo sua germinação (McGee, 1998; Casa, 2006a, Casa, 2000, Rheeder et al., 1990), bem como o vigor das plantas sobreviventes (Clayton, 1927; Casa, 2006b, Pereira et al., 2005 e Lucca Filho, 1987). Para *F. verticillioides*, a maioria das correlações não foi forte, inclusive de Sev e Germ. Assim, maior severidade não resultou em menor germinação. Como mencionado, no presente trabalho, em geral, Germ foi maior que 80%. Há discordâncias quanto ao fato de o fungo reduzir a germinação de sementes infectadas (Henning et al. 2011; Solorzano & Malvick 2011; Pinho et al., 1995; Leon, 1984; Fernandes & Oliveira, 2000; Yates et al., 2005). Apesar de haver danos fisiológicos, mesmo com maior severidade de infecção as sementes germinam (Ramos et al., 2015) e podem originar plantas doentes. Este fato pode ser problemático no campo, em vista da possibilidade de dispersão do patógeno para áreas indenadas. Como os sintomas da infecção por *F. verticillioides* são identificáveis em espigas, é preciso eliminar aquelas sintomáticas antes da debulha, para que se eliminem as sementes mesmo com infecção leve. O patógeno ocorre em sementes aparentemente saudáveis, com ou sem sintomas (Munkvold & Desjardins (1997). Mesmo aquelas assintomáticas podem carrear o patógeno internamente (Fantin & Duarte, 2009; Kimati et al., 2005). Esse aspecto epidemiológico tem importância grande no manejo da podridão.

Trabalhos visando avaliar a qualidade sanitária das sementes são necessários para determinar a intensidade das podridões causadas por *S. macrospora* e *F. verticillioides* e possibilitar a seleção de genótipos resistentes aos dois principais fungos causadores de podridão de espigas e grãos. Ambos estão amplamente dispersos em áreas produtoras no Brasil, com graus de infecção variáveis. Na safra 93/94, no estado de Tocantins, detectaram-

se 15,9% das espigas de 42 híbridos com sintomas de podridão, das quais 75,5% infectadas por *Fusarium* sp. e 19,1% por *Stenocarpella* sp. (Morello et al., 1994). Tais fungos, mesmo quando transmitidos em taxas relativamente baixas por sementes, podem reduzir o estande no campo e causar perdas severas na produção (Costa et al., 2003). Assim, os estudos de doenças causadas por patógenos transmitidos por sementes são suma importância para o manejo da cultura. Espera-se que os resultados obtidos no presente trabalho contribuam para elucidar a etiologia e epidemiologia das podridões, tão importantes para o Brasil.

6. CONCLUSÕES

Em vista dos resultados obtidos com o estudo de inoculação de *F. verticillioides* e *S. macrospora* em seis híbridos de milho, em três épocas, concluiu-se que:

- a intensidade das podridões causadas em espigas e sementes por ambos os patógenos foi similar. Entretanto, *S. macrospora* causou maiores danos à germinação e ao vigor das sementes;
- os métodos de inoculação artificial adotados no campo foram eficientes, para ambos os patógenos;
- os híbridos não diferiram quanto à suscetibilidade a *S. macrospora*, mas diferiram quanto a *F. verticillioides*;
- a época de inoculação afetou diferencialmente cada podridão: para *S. macrospora*, a intensidade foi maior quando inoculado no estágio inicial de florescimento, quando da emissão de estilo-estigma; para *F. verticillioides*, a intensidade da podridão foi maior quando inoculado 30 dias após o estágio inicial;
- para ambos os patógenos, detectou-se alta correlação entre severidade e incidência de espigas doentes.
- para *S. macrospora*, detectou-se alta correlação negativa entre severidade e germinação de sementes, fato não observado para *F. verticillioides*.

7. BIBLIOGRAFIA

- ABRATES - Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. Patologia de sementes. Campinas: Fundação Cargill, 1987.
- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. 4 ed. New York: Academic, 1997.635p.
- AZEVEDO, L. A. S., LEITE, O. M. C. Manual de quantificação de doenças de plantas. São Paulo: Ciba Agro, 1995.48p
- BARBOSA, C. A. Manual da Cultura do Milho. Viçosa: Agro Juris,2010, p.199. 199 p.,
BEDENDO, I.P. Espiroplasmas patogênicos a plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v. 5, p. 99-131, 1997.
- BENSCH, M. J.; VAN STADEN, J.; RIJKENBERG, J. H. F. Time and site of inoculation of maize for optimum infection of ears by *Stenocarpella maydis*. Journal of Phytopathology, v.136, n.4, p.265-269, 1992.
- BOOTH, K.J. The Genus *Fusarium*. Kew, Surrey, C. M. I., 1971.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes.Secretária de Defesa Agropecuária.- Brasília: Mapa/ACS, 2009.399 p.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; NERBASS, F. R. Implicações epidemiológicas da transmissão de fungos em sementes de milho. In: Manejo de doenças de grandes culturas: feijão, batata, milho e sorgo. Lavras: UFLA, p. 202-212, 2006a.
- CASA, R.T.; REIS, E M.; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. Fitopatologia Brasileira, v.31, n.5, p. 427-439. 2006b.
- CASA, R.T. Sobrevivência de *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* em restos culturais de milho. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Viçosa. UFV, 2000.
- CASA, R. T.; ZAMBOLIM, L.; REIS, E. M. Transmissão e controle de diplodia em sementes de milho. Fitopatologia Brasileira. v. 23, p. 436-441, 1998.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PNTO, N. F. J. A. Doenças na cultura do milho. Circular técnica 83, Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), Sete Lagoas, 2006, 14p.
- CLAYTON, E. E. Diplodia ear rot disease of corn. Journal of Agricultural Research. v. 34, p. 357-371, 1927.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab).7º Levantamento de grãos-safra agrícola , 2014/2015.
- COSTA, R.; CASELA, C.; Cota, L.; Cultivo do milho; Embrapa; 2009.

COSTA M. L. N.; MACHADO J. C.; GUIMARÃES R. M.; POZZA E. A.; ORIDE P. Inoculação de *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras/UFLA, 2003.

CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHÃES, P. C. A cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 216-256, 2011.

DIAS, D. C. F. S.; TOLEDO, F. F. Germinação e incidência de fungos em testes com sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. Revista Brasileira de Sementes, Brasília. v. 15, n. 1, p. 81-86, 1993.

DUARTE, R. P.; JULIATTI, F. C.; LUCAS, B. V.; FREITAS, P. T. Comportamento de diferentes genótipos de milho com aplicação foliar de fungicida quanto à incidência de fungos causadores de grãos ardidos. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 112-122, 2009.

DUARTE, L. R.; SÔNEGO, O. R.; URBEN, A. F. *Cylindrocarpon destructans* causador do “pé- preto” da videira no Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. 548-550, 2008.

EIRAS, M.; GALLETI, S. R. Técnicas de diagnóstico de fitopatógenos. 1 ed. São Paulo: Devir Livraria, 2012. 190p.

EMBRAPA MILHO. Tecnologias de produção de milho: Região Central do Brasil 2004. Londrina: EMBRAPA milho, 2003, 237p.

FANCELLI, A. L. Milho: a diferença aparece no manejo. Agriannual: Anuário da Agricultura Brasileira, p.376-378, 2004.

FANTIN, G. M.; DUARTE, A. P. Manejo de doenças na cultura do milho safrinha. Campinas: Instituto Agrônomo, 2009, 99p.

Figueiredo Filho, D.B.; Silva Junior, J.A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). Revista Política Hoje 18: 115-146, 2009.

FLEET, B. C.; MC STELAREN, N. W. Optimum diseases potencial for evaluating resistance to *Stenocarpella maydis* ear rot in corn hybrids. Plant Disease, Saint Paul, v. 78, p. 587-589, 1994.

Marcos-Filho, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ, 2005, 495p.

GRANDIS, A.; GRAVENA, J. C.; MORAES, M. H. D.; BRUNELLI, K. R.; MENTEN, J. O. M.; SOBRINHO, C. A.; MATIELLO, R. R.; CARVALHO, R. V.; PAVANI, J. D. Severidade da mancha foliar de diplodia (*Stenocarpella macrospora*) e sua relação com a incidência do patógeno e a germinação, em grãos de híbridos comerciais e experimentais de milho (*Zea mays* L.). Revista Brasileira de milho e sorgo, Brasília. v. 7, n. 2, p. 129-139, 2008.

KIMATI, H. FILHO, B. L., CAMARGO, L. E. A., REZENDE, J. A. M. Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. 4. ed. Volume 2 Piracicaba, SP: 2005, 663p.

KOEHLER, B. Husk coverage and ear declination in relation to corn ear rots. *Phytopathology*. v. 41, n. 22, 1951.

KÖPPEN, W. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Econômica. México. 1948, 479p.

KOEHLER, B. Husk coverage and ear declination in relation to corn ear rots. *Phytopathology*. v. 41, n. 22, 1951.

KRZYZANOWSKI, F. C. Danos mecânicos ocorridos no beneficiamento de sementes de soja e suas relações com a qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 21, n. 1, p. 59-66, 1999.

LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium spp.* In: Reunião de controle biológico de fitopatógenos, v. 7, 2001, Bento Gonçalves. Anais Bento Gonçalves: UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho. 2001.

LEON C. Enfermedades del maíz - una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 3 ed. El Batán, Texcoco, Edo. de México. 1984, 114 p.

LUCCA FILHO, O. A. Testes de sanidade de sementes de milho. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Eds.) *Patologia de sementes*. Campinas SP. Cargill. p. 430-440, 1987.

MARASAS, W. F. O.; VAN DER WESTHUIZEN, G. C. A. *Diplodia macrospora*: the cause of a leaf blight and cob rot of maize (*Zea mays*) in South Africa. *Phytophylactica*. v. 11, p. 61-64, 1979.

McGEE, D. C. *Maize diseases: a reference source for seed technologists*. American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota. 1998.

McGEE, D. C. *Maize diseases: A reference source for seed technologists*. Saint Paul MN. American Phytopathological Society. 1988.

MORELLO, C. L., SANTOS, G. R., MIRANDA, G. V.; ARAÚJO, E. Fungos associados à podridão de espiga de milho, ciclo normal, no Estado do Tocantins. *Fitopatologia Brasileira*. v. 19, 1994, 272 p.

MUNKVOLD, G. P.; O'MARA, J. K. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. *Plant Disease*. v. 86, p. 143-150, 2003.

MUNKVOLD, G. P., MCGEE, D. C., AND CARLTON, W. M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. *Phytopathology*. v. 87, p. 209-217, 1997.

MUNKVOLD, G. P.; DESJARDINS, A. E. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*, St. Paul. v. 81, n. 6, p. 556-565, 1997.

NEERGAARD, P. Seed Pathology. London. The MacMillan Press. v. 1, 1979.

NERBASS, F. R.; CASA, R.T; ANGELO H.R et al. Sanidade de sementes de milho comercializadas na safra agrícola de 2006/07 em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. Revista de Ciências Agroveterinárias. v.7, p. 30-36, 2008.

OLIVEIRA, E.; FERNANDES, F. T.; PINTO, N. F. J. A. Doenças do milho: identificação e controle. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005, 84p.

PINTO, N. F. J. A. Reação de cultivares com relação à produção de grãos ardidos em milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007, 4 p.

PINTO, N. F. J. de A. Podridão branca da espiga de milho. Comunicado Técnico 141, Embrapa Milho e Sorgo, 2006, 6 p.

PINTO, N. F. J. A. Grãos ardidos em milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 2005, p.6

PINHO, E. V. R. V.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A. D.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). Revista Brasileira de Sementes, Brasília. v. 17, n. 1, p. 23-28, 1995.

PONS, A.; BRESOLIN, M. A cultura do milho. Trigo e Soja. Porto Alegre, n. 57, p. 6-31, 1981.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. Manual de diagnose e controle de doenças do milho. 2 ed. Lages SC. Graphel. 2004.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Controle de doenças fúngicas na cultura do milho, em plantio direto, no sul do Brasil. In: Borges, G. & Borges, L.D. (Eds.) Seminário sobre tecnologia de produção e comercialização do milho. Passo Fundo, RS. Resumo de Palestras. Editora Aldeia Norte, Passo Fundo, RS. p. 62-71, 2000.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Manual de identificação e controle de doenças de milho. Passo Fundo RS. Aldeia Norte Editora. 1996.

RHEEDER, J.P., MARASAS, W.F.O., WYK, P.S.VAN., TOIT, W.DU., PRETORIUS, A.J. & SCHALKWYK, D.J. VAN. Incidence of *Fusarium* and *Diplodia* species and other fungi in naturally infected grain of South African maize cultivars. *Phytophylactica* 22:97-102.1990

RIBEIRO, N. A; CASA, R.T, BOGO,A , SANGOI, L, MOREIRA, E.N, WILLE, L.A et al. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. *Ciência Rural*. v.35, p.1003- 1009, 2005.

SCOTT, D. B. Soil-borne diseases of wheat and maize in South Africa: etiological and epidemiological aspects. *Applied Plant Science*. v. 7, p. 60-64, 1993.

SILOTO, R. C. Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. Piracicaba, 2002. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SILVA, O. C.; SCHIPANSKI, C. A. Manual de identificação e manejo das doenças do milho. Castro: Fundação ABC, 2006.

SILVA, A. R.; JULIATTI, F. C. Esporulação de *Diplodia maydis* e *Diplodia macrospora* em diferentes meios de cultura. Bioscience Journal. v. 21, n. 3, p. 127-131, 2005.

SMITH, D. R.; WHITE, D. G. Diseases of corn. In: Sprague, G.F. & Dudley, J.W. (Eds.) Corn and corn improvement. American Society of Agronomy. Madison, WI. p. 687-766, 1988.

Suwa, R.; Hakata, H.; Hara, H.; El-Shemy, H. A.; Adu-Gyamfi, J.J.; Nguyen, N. T.; Kanai, S.; Lightfoot, D.A.; Mohapatra, P.K.; Fujita, K. High temperature effects on photosynthate partitioning and sugar metabolism during ear expansion in maize (*Zea mays* L.) genotypes. Plant Physiology and Biochemistry, v.48, p.124-130, 2010.

ULLSTRUP, A. J. Observations on two epiphytotics of *Diplodia* ear rot of corn in Indiana. Plant Disease. v. 48, p. 414-415, 1964.

Wilke, A. L., Bronson, C. R., Tomas, A., and Munkvold, G. P. 2007. Seed transmission of *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three different temperature regimes. Plant Dis. 91:1109-1115.

YORINORI, J. T. Doenças da soja causadas por fungos. Informe Agropecuário, Belo Horizonte. v. 8, n. 94, p. 40-46. 1982.
8.