

RAFAEL AUGUSTO VIEIRA

**Melhoramento genético da resistência à helmintosporiose
comum, cercosporiose e ferrugem-polissora em milho-pipoca**

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
JULHO – 2010**

RAFAEL AUGUSTO VIEIRA

**Melhoramento genético da resistência à helmintosporiose
comum, cercosporiose e ferrugem-polissora em milho-pipoca**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre.

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
JULHO – 2010**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

V658m Vieira, Rafael Augusto
Melhoramento genético da resistência à
helmintosporiose comum, cercosporiose e ferrugem-
polissora em milho-pipoca. / Rafael Augusto Vieira. --
Maringá, 2010.
xv, 86 f. : il., figs., quadros.

Orientador : Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim.
Co-orientador : Prof. Dr. Dauri José Tessmann.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Programa de Pós-Graduação em Genética e
Melhoramento, 2010.

1. Milho-pipoca (*Zea mays* L.) - Análise dialélica.
2. Milho-pipoca (*Zea mays* L.) - Melhoramento genético.
3. Milho-pipoca (*Zea mays* L.) - Genética quantitativa.
4. Milho-pipoca (*Zea mays* L.) - Doenças foliares. I. Scapim, Carlos Alberto, orient. II. Tessmann, Dauri José, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. IV. Título.

CDD 21.ed. 635.677

*Aos meus pais, Vilson e Dalva, e minha irmã, Vivian,
com amor, DEDICO.*

Somente junto se conquista!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me aceitar como filho, iluminando meu caminho e me concedendo inúmeras bênçãos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PGM) e seus professores, pela oportunidade e valiosos ensinamentos durante esse período.

À CAPES, pela concessão de bolsa.

A meus pais, Vilson e Dalva, minha irmã Vivian e minha namorada Francielli, por todo amor, carinho, compreensão e incentivo; pessoas as quais dão sentido à minha vida, tornando-a completa.

Aos professores doutores Carlos Alberto Scapim e Dauri José Tessmann, pela confiança e pelas oportunidades concedidas nestes anos de convivência, pela amizade e pelos exemplos de competência e ética.

Aos colegas do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento e dos Laboratórios de Biotecnologia e Fitopatologia, pelos momentos compartilhados, que tornaram este período ainda mais marcante.

Aos parentes mais próximos, avó Lourdes, tias Agda, Frô e Meire, tio Mauro e os primos André, Gabi e Iza, apoio, incentivo, amor e carinho; fundamentais nesta conquista.

À Renata M. Mesquini e Fernando T. Hata, pelo auxílio e comprometimento com o desenvolvimento da nova escala diagramática para helmintosporiose.

Aos avaliadores, pela disponibilidade e boa vontade nas avaliações utilizando a nova escala e as demais metodologias.

Ao amigo Fernando T. Hata, pela prontidão e incentivo.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

RAFAEL AUGUSTO VIEIRA, filho de Vilson Gabriel Vieira e Dalva Izabel Fontana Vieira, nasceu em Maringá, Paraná, no dia 25 de dezembro de 1986.

Concluiu o Ensino Fundamental, em dezembro de 2000, na Escola Municipal Midufo Vada, e o Ensino Médio, em dezembro de 2003, no Colégio Estadual Gastão Vidigal, ambos em Maringá, Paraná.

Em março de 2004, ingressou no curso de Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sendo titulado Engenheiro Agrônomo em 2008.

Em março de 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PGM) da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Entre 2005 e 2009, foi bolsista dos Programas de Iniciação Científica dos Programas PIC/UEM e PIBIC/FA-CNPq, do Programa de Desenvolvimento Tecnológico-Industrial DTI e do PGM pela CAPES.

Entre janeiro e abril de 2010, foi contratado sob vínculo temporário pela Monsanto do Brasil, participando de atividades relacionadas aos programas de melhoramento de milho.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. O milho.....	3
2.1.1. O milho-pipoca	4
2.2. A cercosporiose do milho causada por <i>Cercospora</i> spp.....	6
2.3. A helmintosporiose do milho causada por <i>Exserohilum turcicum</i>	9
2.4. A ferrugem polissora causada por <i>Puccinia polysora</i>	10
2.5. Melhoramento genético visando resistência a doenças foliares	11
2.5.1. Trabalhos de resistência a doenças em milho-pipoca no Brasil	16
2.6. Algumas metodologias de estudo da resistência a doenças.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Análises dialélicas e efeitos gênicos da resistência à helmintosporiose e cercosporiose.....	19
3.2. Análise de um dialelo parcial circulante para resistência à ferrugem polissora	30
3.3. Uma nova escala diagramática para avaliar a severidade de helmintosporiose do milho	34
3.4. <i>Screening</i> inicial de híbridos de milho-pipoca quanto à resistência a doenças	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1. Análises dialélicas e efeitos gênicos da resistência à helmintosporiose e cercosporiose.....	41
4.2. Análise de um dialelo parcial circulante para resistência à ferrugem polissora	54
4.3. Uma nova escala diagramática para avaliar a severidade de helmintosporiose do milho	58
4.4. <i>Screening</i> inicial de híbridos de milho-pipoca quanto à resistência a doenças	63
5. CONCLUSÕES.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
8. ANEXOS	83

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Origem e reação das linhagens à helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.)..... 20
- Quadro 2 - Esquema utilizado para as análises dialéticas conjuntas, considerando efeitos aleatórios..... 22
- Quadro 3 - Esquema utilizado para as análises dialéticas individuais, pelo método IV, modelo I, de Griffing (1956), considerando efeitos aleatórios..... 26
- Quadro 4 - Esquema utilizado para as análises dialéticas conjuntas, pelo método IV, modelo I, de Griffing (1956), considerando efeitos aleatórios..... 29
- Quadro 5 - Análises individuais de variância para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialéticos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca..... 31
- Quadro 6 - Médias originais de severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.) na safra (acima da diagonal) e na safrinha (abaixo da diagonal), em híbridos originados de cruzamentos dialéticos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca..... 41
- Quadro 7 - Análise conjunta de variância (ambientes: safra e safrinha) e parâmetros genéticos para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialéticos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca..... 42
- Quadro 8 - Análises dialéticas individuais para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialéticos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca. 43
- Quadro 9 - Análise dialética conjunta (ambientes: safra e safrinha) para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialéticos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca..... 45
- Quadro 10 - Estimativas de efeitos da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) e efeitos da interação capacidade geral de combinação-ambientes ($\hat{g}a_{ik}$) para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e

cercosporiose (<i>Cercospora</i> spp.), em nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca.....	48
Quadro 11 - Estimativas médias de efeitos da capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) para severidade de helmintosporiose (<i>E. turcicum</i> ; acima da diagonal) e cercosporiose (<i>Cercospora</i> spp.; abaixo da diagonal), em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca.....	49
Quadro 12 - Porcentagens de severidade de helmintosporiose (<i>E. turcicum</i>) e cercosporiose (<i>Cercospora</i> spp.) preditas para os compostos possíveis entre as linhagens promissoras (P_8 e P_9 , para helmintosporiose; P_2 e $P_{4,3}$, para cercosporiose), com base nas médias, na safra e na safrinha, dos híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos.....	51
Quadro 13 - Linhagens e híbridos simples de milho-pipoca envolvidos nos cruzamentos dialélicos em esquema parcial circulante balanceado, com três combinações híbridas por genitor.....	54
Quadro 14 - Médias de severidades aos 80 e 92 dias após a semeadura (d.a.s.) e a área abaixo da curva de progresso (AACPD) da severidade de ferrugem polissora (<i>P. polysora</i>) nos híbridos do dialelo parcial circulante e médias das combinações híbridas das linhagens.....	56
Quadro 15 - Análise de variância para as severidades aos 80 e 92 dias após a semeadura (d.a.s.) e a área abaixo da curva de progresso da severidade de ferrugem polissora (AACPD).....	57
Quadro 16 - Análise dialélica parcial circulante para as severidades aos 95 e 105 dias após a semeadura (d.a.s.) e a área abaixo da curva de progresso da severidade de ferrugem polissora (AACPD) nos genótipos estudados.....	58
Quadro 17 - Estimativas de capacidade geral de combinação (\hat{g}_j) das linhagens do grupo 2 (Zaeli) para resistência à ferrugem polissora (<i>P. polysora</i>).....	59
Quadro 18 - Estimativas de capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) das linhagens do grupo 1 (IAC 112) para resistência à ferrugem polissora (<i>P. polysora</i>).....	59
Quadro 19 - Resultados sumarizados de acurácia, precisão e reprodutibilidade das avaliações de severidade de helmintosporiose utilizando a nova escala e as demais metodologias.....	62

Quadro 20 - Estatísticas descritivas do experimento e teste de Kruskal-Wallis para os postos atribuídos à área abaixo da curva de progresso (AACPD) de helmintosporiose e cercosporiose.....	65
Quadro 21 - Médias dos postos e AACPD de helmintosporiose e cercosporiose, com respectivos valores de avanço (VdA) quanto à sanidade foliar.....	68
Quadro 22 - Resumo das considerações feitas com base nos valores de avanço (VdA) dos novos híbridos quanto a indicação dos melhores híbridos para sanidade foliar.....	69
Quadro 23 - Estimativas de correlações de postos de Spearman entre os valores de área abaixo da curva de progresso (AACPD) e as severidades nas três últimas avaliações, em dias após a semeadura, (d.a.s.) que compuseram a AACPD.....	70

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Nova escala diagramática para avaliação da severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) em folhas de milho..... 60
- Figura 2 - Resíduos entre as severidades real e estimadas para severidade de helmintosporiose, utilizando a nova escala, proposta neste estudo (A); sem a utilização de escalas (B); utilizando a escala de Pataky (1992) (C); e utilizando a escala de Canteri et al. (1999) (D). Os resíduos de todos os avaliadores foram plotados conjuntamente..... 63

RESUMO

VIEIRA, Rafael Augusto, M. Sc. Universidade Estadual de Maringá, julho de 2010. **Melhoramento genético da resistência à helmintosporiose comum, cercosporiose e ferrugem-polissora em milho-pipoca.** Professor Orientador: Carlos Alberto Scapim. Professor Co-orientador: Dauri José Tessmann.

A obtenção de genótipos resistentes a doenças é um dos principais objetivos do melhoramento de milho. Neste intento, a identificação de genitores e a estimação de parâmetros genéticos e efeitos gênicos permitem direcionar os procedimentos para maiores ganhos de seleção. Os objetivos deste trabalho foram: (i) averiguar as possibilidades de melhoramento, identificando linhagens e híbridos de milho-pipoca favoráveis para resistência à helmintosporiose comum (*Exserohilum turcicum*), cercosporiose (*Cercospora* spp.) e ferrugem polissora (*Puccinia polysora*), bem como estudar os efeitos gênicos e parâmetros genéticos da resistência para definir estratégias de melhoramento; (ii) propor uma nova escala diagramática para helmintosporiose, capaz de possibilitar avaliações fidedignas para discriminação da resistência; (iii) avaliar a reação à helmintosporiose e cercosporiose de novos híbridos de milho-pipoca, indicando os melhores para etapas subseqüentes do programa. Para atingir os objetivos (i) e (iii), experimentos em campo foram conduzidos e avaliações de severidades das doenças foram realizadas. Os dados foram analisados por análises de variância paramétrica, análises dialélicas e testes não-paramétricos. Para o objetivo (ii), folhas foram coletadas, tiveram as severidades reais mensuradas e avaliadas, utilizando a nova e demais escalas. Os dados foram submetidos a análises de regressão linear. A capacidade geral e específica de combinação foram significativas ($p < 0,10$) para a resistência à helmintosporiose e cercosporiose e os efeitos de capacidade geral foram predominantes, indicando que os genes de efeitos aditivos foram mais importantes e que métodos intrapopulacionais de seleção recorrente serão efetivos. As linhagens P₈ e P₉ foram as que mais contribuíram para resistência à helmintosporiose. As linhagens P₃ e P_{4,3} foram as mais indicadas para resistência à cercosporiose. Nesse contexto, recomendou-se o composto 2 × 4 × 8. Estimativas de parâmetros genéticos indicaram maiores dificuldades para o melhoramento visando resistência à cercosporiose do que

para helmintosporiose. Para ferrugem polissora, constataram-se diferenças significativas ($p < 0,10$) na capacidade geral de combinação do grupo 2-Zaeli, sendo que as linhagens $P_{8.5}$ e $P_{8.2}$ foram as que mais contribuíram para a resistência, indicadas para populações-base para seleção. Efeitos de capacidade geral foram predominantes aos efeitos de capacidade específica, indicando maior importância de genes aditivos para a resistência à polissora e sugerindo que métodos intrapopulacionais de seleção recorrente são mais efetivos. A nova escala aumentou precisão, acurácia e reprodutibilidade das estimativas de severidade de helmintosporiose, sendo a mais eficiente metodologia para obter dados adequados para comparar genótipos quanto à resistência. Os 42 híbridos testados puderam ser classificados como resistentes à helmintosporiose e oito deles foram medianamente susceptíveis à cercosporiose. Usando os valores de avanço, 26 novos híbridos puderam ser avançados para testes subsequentes.

Palavras-chave: capacidade de combinação, efeitos gênicos, parâmetros genéticos.

ABSTRACT

VIEIRA, Rafael Augusto, M. Sc., Universidade Estadual de Maringá, 2010 July. **Breeding for resistance to northern leaf blight, gray leaf spot and southern rust in popcorn.** Advisor: Carlos Alberto Scapim. Co-advisor: Dauri José Tessmann.

obtain disease resistant genotypes are a major goals of corn breeding. In this attempting, the identification of promising parental genotypes and to the estimation of genetic parameters and genes effects are required to direct the procedures towards higher gains from selection. The goals of this work were: (i) to investigate the possibilities of breeding, identifying inbred lines and hybrids which are resistant to northern leaf blight (*Exserohilum turcicum*), gray leaf spot (*Cercospora* spp.) and southern rust (*Puccinia polysora*) resistances; as well as to study gene effects and genetic parameters to decide about breeding strategies; (ii) to propose a new diagrammatic scale to assess northern leaf blight, providing reliable assessments to determine resistance levels; (iii) to evaluate the reaction of new popcorn hybrids to northern leaf blight and gray leaf spot, indicating the best ones to advancement in the program. To achieve the goals (i) e (iii), test under field conditions were conducted and diseases severity assessment were carried out. Data sets were examined by parametric analysis of variance, diallel analysis and non-parametric tests. To the goal (ii), leaves were collected and actual severity was measured. Then, severity on leaves was estimated using the new and other scales and data set was submitted to linear regression analysis. General and specific combining abilities were significant ($p < 0.10$) to northern leaf blight and gray leaf spot resistances. General combining ability was predominant, indicating that additive genes were more important and intrapopulation methods of recurrent selection can be effective. Inbred lines P_8 and P_9 were the most contributed to northern leaf blight resistance. Inbreds P_3 and $P_{4.3}$ were the most indicated to gray leaf spot resistance. In this context, it was recommended the composite $2 \times 4 \times 8$. The estimates of genetic parameters indicated more difficulties to breed towards gray leaf spot resistance than to northern leaf blight. To southern rust, it was verified significant differences ($p < 0.10$) to group 2-Zaeli general combining ability, in which the inbreds $P_{8.5}$ and $P_{8.2}$ were the most contributed to resistance, being indicated to segregant populations to selection. General combining effects

predominated over those of specific ability, indicating that additive genes are more important to southern rust resistance and suggesting that intrapopulation methods of recurrent selection might be more effective. The new scale increased precision, accurate and reproducibility of northern leaf blight severity estimates. Then, this scale was considered the most efficient methodology to obtain reliable data sets and compare genotypes in resistance. The 42 hybrids were classified as resistant to northern leaf blight and eight of them were medium susceptible to gray leaf spot. Using advanced values, 26 new hybrids might be advanced to subsequent tests.

Key words: combining ability, gene effects, genetic parameters.

1. INTRODUÇÃO

O melhoramento de plantas começou quando, há 10.000 anos, o homem aprendeu a cultivar seus próprios alimentos, o que lhe permitiu deixar de ser nômade e depender menos da natureza quanto à disponibilidade de alimentos (Duvick, 1996; Pacheco, 1997). Desde então, foi constante o aprimoramento de sua capacidade em observar e selecionar vegetais quanto à cor, forma, tamanho, textura, quanto ao sabor e à quantidade produzida de grãos, frutos, folhas, caules, raízes e rizomas (Pacheco, 1997).

Após o início do século passado, com a 'redescoberta' dos trabalhos de Mendel e os trabalhos de Fisher, em 1918, o desenvolvimento de metodologias genético-estatísticas possibilitaram avanços inestimáveis à ciência do melhoramento de plantas. Nasceu assim a genética quantitativa, uma das mais importantes ferramentas à disposição dos melhoristas e forte motor para o aprimoramento do conteúdo teórico que suporta o melhoramento e a estatística experimental.

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta herbácea anual, monóica díclina, que pertence à família Gramineae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae. Nos dias atuais, sua cultura exerce importância fundamental no agronegócio, estimando-se que a produção mundial se aproxime de 806 milhões de toneladas na safra 2009/2010; 53,4 milhões destas produzidas pelo Brasil (CONAB, 2009; IGC, 2009). Muito embora a relevância científica e sócio-econômica do milho implique na realização de pesquisas nos mais diversos campos da ciência, ainda hoje, a cultura é muito afetada por diversas doenças, as quais podem causar danos significativos no rendimento e na qualidade dos grãos.

O milho-pipoca é um alimento bastante apreciado no Brasil e, possui valor de comercialização superior ao milho comum (Scapim et al., 2002). Muito embora o milho-pipoca agregue valor aos grãos, a disponibilidade de cultivares e recomendações específicas de cultivos se constituem em um problema desta cultura, resultando em importações de grãos (Scapim et al., 2002). Porém, esta situação tem sido revertida por importantes avanços em programas de melhoramento.

Em programas de melhoramento de milho, a obtenção de genótipos resistentes a doenças é um dos principais objetivos. Três apelos de relevância nesse contexto são o ambiental, diminuindo riscos ao meio ambiente, e econômico, garantindo ao produtor danos menores de produtividade devidos às doenças, e o mercadológico, agregando mais um trunfo no atendimento às demandas do mercado de sementes. No tocante à resistência as doenças, os trabalhos de introdução de resistência em germoplasma susceptível são mais eficientes quando suplantados pela prévia identificação de genitores promissores, pela estimação de parâmetros genéticos e pela determinação dos efeitos gênicos. Tais conhecimentos são fundamentais para obter maiores ganhos de seleção nos métodos a serem empregados.

Diversas doenças foliares afetam a cultura do milho, causando danos significativos ao rendimento e à qualidade dos grãos. No Brasil, estas doenças têm aumentado de importância devido ao incremento de inóculo e das condições climáticas favoráveis, proporcionadas principalmente por sistemas de produção sob plantio direto, em segunda safra e em áreas irrigadas. Nesse contexto, frente à base genética relativamente estreita do milho-pipoca (Ziegler e Ashman, 1994; Kantety et al., 1995; Miranda et al., 2008) e à maior suscetibilidade às doenças (Linares, 1987; Arnhold, 2008), o melhoramento visando resistência a doenças ganha ainda mais importância.

Posto isso, os objetivos deste trabalho foram: (i) averiguar as possibilidades de melhoramento, utilizando parte do germoplasma de milho-pipoca do programa de Milhos Especiais da Universidade Estadual de Maringá, identificando linhagens e combinações híbridas favoráveis para resistência à helmintosporiose, cercosporiose (*Cercospora* spp.) e ferrugem polissora (*Puccinia polysora*), bem como estudar os efeitos gênicos e parâmetros genéticos envolvidos na resistência a estas doenças, de modo a definir as estratégias mais adequadas de melhoramento; (ii) propor uma nova escala diagramática para severidade de helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*), capaz de possibilitar avaliações mais fidedignas para discriminação da resistência; (iii) avaliar a reação à helmintosporiose e cercosporiose de novos híbridos de milho-pipoca, indicando os melhores deles quanto à sanidade foliar para testes em etapas subsequentes do programa.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O milho

O milho (*Zea mays* L., $2x = 20$) é uma planta herbácea anual, monóica díclina, que pertence à família Gramíneae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae. Seu centro de diversidade genética concentra-se no continente americano, principalmente Américas Latina e Central. Quanto à origem, existem diversas hipóteses, sendo que a mais aceita decorre da domesticação do teosinto (*Euchlaena mexicana*).

A cultura do milho exerce importância fundamental no agronegócio brasileiro e mundial. Estima-se que a produção se aproxime dos 806 milhões de toneladas na safra 2009/10; sendo 334 milhões de toneladas produzidas pelos Estados Unidos, 155 milhões pela China e 53,4 milhões pelo Brasil (CONAB, 2009; IGC, 2009). Dentre a produção brasileira, 34,0 milhões de toneladas foram produzidos na primeira safra e 19,4 milhões na segunda safra (CONAB, 2009).

Porém, outros aspectos além do econômico enaltecem a importância do milho. Desde os primórdios, os grãos de milho formaram a base alimentícia de antigas civilizações americanas e, ainda hoje, o milho é extensivamente consumido *in natura* e de forma indireta, como fonte energética nas cadeias produtivas de proteína animal. Ademais, nos Estados Unidos, o milho tem sido utilizado em uma nova atribuição, servindo de matriz energética para a produção de etanol.

Do ponto de vista científico, as pesquisas com milho nortearam estudos em outras culturas e promoveram avanços no entendimento da genética básica e do melhoramento de plantas. Exemplos clássicos podem facilmente situar a relevância científica do milho. Um primeiro foi advindo das pesquisas de George H. Shull e Edward M. East, no início dos anos 1900, o qual utilizaram conceitos de endogamia e heterose para obter variedades híbridas com vigor e potencial produtivo destacado das demais cultivares da época; revolucionando o mercado de sementes. Outra grande contribuição com o milho, feita por Barbara McClintock nas décadas de 1940-50, foi a descoberta dos elementos genéticos de transposição (*transposons*), e que lhe rendeu um Prêmio Nobel em 1983. Recentemente, o milho tem tido papel destacado no desenvolvimento de novas

tecnologias, tais como os eventos de transgenia resultantes em resistência a insetos e herbicidas e na obtenção de linhagens endogâmicas em uma só geração, pelo método de duplo-haplóides.

Muito embora a relevância científica e sócio-econômica do milho implique na realização de pesquisas nos mais diversos campos da ciência, ainda hoje, a cultura é afetada por diversas doenças, as quais podem causar danos ao rendimento e à qualidade dos grãos. De modo geral, estas doenças têm aumentado de importância nas regiões produtoras do Brasil, sobretudo pela maior intensidade associada ao incremento de inóculo e a condições favoráveis de temperatura e umidade. Frequentemente, estas condições ocorrem em condições de semeaduras em plantio direto, em segunda safra e em áreas irrigadas; situações estas que têm sido importantes no panorama das últimas décadas na agricultura brasileira.

Dentre as doenças foliares do milho, a **cercosporiose** – também chamada de mancha de cercospora, mancha cinzenta e *gray leaf spot* – causada pelos fungos *Cercospora zea-maydis* Tehon & Daniels (teleomorfo *Mycosphaerella* sp.), *C. sorghi* Ellis & Everht f. sp. *maydis* Ellis & Everht e *C. zeina* Crous & U. Braun; a helmintosporiose – causada por *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs [sinônimo *Helminthosporium turcicum* (Pass.), teleomórfo *Bipolaris turcica* (Pass.) Shoemaker; e a ferrugem polissora, causada por *Puccinia polysora* Underw. – são reconhecidamente importantes, tanto pelo potencial de redução de rendimento de grãos quanto pela ocorrência generalizada nas regiões produtoras do Brasil e do mundo.

2.1.1. O milho-pipoca

O milho-pipoca (*Zea mays* L.), assim como os demais tipos de milho, é uma planta herbácea anual, pertencente à família Gramineae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae. Estudos evidenciam que o milho-pipoca teve seu centro de origem na América Latina, apresentando neste continente seu maior número de variedades.

O milho-pipoca é um alimento bastante apreciado no Brasil e apresenta valor comercial superior ao milho de endosperma comum. Este tipo de milho se diferencia dos demais pela capacidade que os grãos têm de estourar, formando a

pipoca. Esta característica é denominada capacidade de expansão, definida pela relação entre o volume expandido e a massa de grãos utilizada para a expansão. Genótipos com maiores índices de capacidade de expansão têm maior valor comercial devido ao maior volume de pipoca que proporcionam, pela melhor textura e maior maciez da pipoca.

No Brasil, o melhoramento do milho-pipoca foi iniciado pelo Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas-SP, em 1932. Como decorrência desse trabalho, no ano de 1941, foi lançada a primeira variedade nacional, proveniente de ciclos seleção massal na população-base denominada *South American Mushroom* (SAM), derivada da população norte-americana *South American*. Muito embora o melhoramento de milho-pipoca não seja uma atividade recente, o número de cultivares é limitado, apenas sete (Zélia, Jade e IAC125 – híbridos triplos; IAC112 – um híbrido simples modificado; e RS-20, BRS Ângela e UFVM2-Barão-Viçosa – variedades de polinização aberta) e o cultivo comercial é bastante modesto em área e tecnologia de produção. Esses fatores somados favorecem à importação de grãos, principalmente dos EUA. Em geral, os fatos supracitados também estão relacionados ao pouco interesse das grandes empresas de melhoramento pelos milhos ditos especiais (pipoca, doce, branco, verde, canjica, ceroso, minimilho e de alta qualidade protéica).

A base genética do germoplasma de milho-pipoca é relativamente estreita quando comparada ao milho de endosperma comum (Ziegler e Ashman, 1994), o que possibilita a obtenção de um número relativamente limitado de genótipos. Esses genótipos são vindos do germoplasma *flint*, modificado por meio de seleção para maximizar a capacidade de expansão e a qualidade de pipoca (Kantety et al., 1995; Miranda et al., 2008). Segundo Linares (1987), quando comparadas com o milho normal, as populações de milho-pipoca caracterizam-se por apresentarem plantas menores e prolíficas, menor número de folhas, maior pendão, espigas menores situadas numa posição mais alta do colmo, colmos mais finos e fracos (suscetíveis ao acamamento e quebramento), maior suscetibilidade às doenças e menor produtividade. Neste contexto, a caracterização de genótipos quanto às doenças, o conhecimento dos efeitos gênicos associados à resistência e a estimação de parâmetros genéticos são fundamentais para auxiliar o melhorista na escolha dos genitores e métodos de

seleção empregados, fomentando assim à posterior obtenção de genótipos superiores.

2.2. A cercosporiose do milho causada por *Cercospora* spp.

Histórico e importância

A cercosporiose do milho foi relatada pela primeira vez em 1924, em Alexander, no estado do Illinois, EUA. Desde então, foi considerada uma doença sem importância, de maior frequência no final do ciclo da cultura e de ocorrência restrita às regiões montanhosas do estado da Carolina do Norte (Reis et al., 2004). Entretanto, de 1988 a 1995, um aumento drástico de incidência e severidade foi registrado em lavouras irrigadas e de sequeiro na região do Cinturão do Milho, EUA (Reis et al., 2004).

Uma situação semelhante foi observada também no Brasil. Desde seu primeiro relato, feito por Viégas (1945), decorrente de observações feitas por Viégas e Krug no ano de 1934, em Campinas-SP, a cercosporiose foi considerada uma doença de importância secundária. Porém, no ano de 2000, as severas epidemias constatadas no sudoeste do estado de Goiás – e que se alastraram para a região centro-sul nas safras seguintes (Brunelli, 2004; Reis et al., 2004) – alteraram este panorama, tornando a cercosporiose uma das principais doenças do milho, sobretudo nas regiões brasileiras denominadas de Cerrados Altos (partes de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul) e nas regiões produtoras do Sul do país (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul).

Nos últimos 25 anos, a cercosporiose tem se distribuído por diferentes regiões geográficas (Ward et al., 1999). Além da ocorrência nos Estados Unidos, Brasil e África, a doença tem sido relatada em países das Américas Latina e Central, tais como Colômbia, Peru, Costa Rica, México e Venezuela (Ward et al., 1999; Reis et al., 2004); e na China (CIMMYT, 2010), situada na Ásia.

De modo geral, os danos de rendimento de grãos ocasionados pela cercosporiose têm variado de 13% a 65% (Donahue et al., 1991; Ward e Nowell, 1998; Ward et al., 1999; Brito et al., 2007), dependendo da resistência do hospedeiro, do sistema de produção empregado e das condições climáticas. Tais danos são decorrentes da perda de área foliar fotossintetizante. Nesse contexto, o

uso de cultivares resistentes é a principal medida de controle, vez que reduz os custos de produção e minimiza riscos à atividade e ao meio ambiente.

Etiologia e taxonomia

Três espécies do gênero *Cercospora* são consideradas agentes causais da cercosporiose. A primeira delas é a espécie *C. zea-maydis*, (teleomorfo *Mycosphaerella* sp.).

Inicialmente, a espécie *C. zea-maydis* foi dividida em dois grupos de diversidade, grupos I e II, com base em análises moleculares e de produção de cercosporina, um pigmento associado à virulência e patogenicidade. Porém, recentes estudos moleculares propuseram que os grupos I e II de *C. zea-maydis*, sejam na verdade, duas espécies distintas de *Cercospora*. Assim, a espécie *C. zea-maydis* restringiu-se apenas aos isolados pertencentes ao grupo I; enquanto isolados anteriormente atribuídos ao grupo II passaram a ser denominados em uma nova espécie, chamada de *C. zeina* Crous & U. Braun sp. nov. (Crous et al., 2006). Uma terceira espécie, *C. sorghi* Ellis & Everht f. sp. *maydis* Ellis & Everht, também é associada à cercosporiose; porém considerada de importância diminuta pela baixa eficiência na colonização dos tecidos das plantas hospedeiras. Estudos determinaram a ocorrência de isolados pertencentes aos grupos I e II de *C. zea-maydis* no Brasil (Brunelli, 2004; Mathioni, 2006). Com base na nova classificação sistemática, há a ocorrência das duas espécies, *C. zea-maydis* e *C. zeina*, causando a cercosporiose do milho no Brasil.

Sintomatologia, ciclos de infecção e epidemiologia

Não há relatos de *Cercospora* spp. patogênico ao milho infectando outros hospedeiros, bem como de transmissão via semente. Sob condições ambientais de temperatura e umidade, o fungo presente nos restos culturais produz conídios, disseminados pelo vento e respingos de chuva para infectar novas plantas de milho, constituindo o sítio primário de infecção. Os conídios formados no sítio primário proverão inóculo para os demais ciclos de infecção, no decorrer do desenvolvimento das plantas. Sob condições ambientais favoráveis, os conídios depositados na superfície foliar germinam, conduzindo ao crescimento os tubos germinativos em direção aos estômatos. Sob condições ideais, o processo de

penetração pode se iniciar com 16 horas após a inoculação (Brunelli, 2004), sendo que, após a penetração, há a formação de vesículas nas extremidades das hifas de penetração e o fungo inicia a colonização pelos espaços intracelulares (Reis et al., 2004).

Os sintomas iniciais da doença, caracterizados por lesões que surgem como pequenas manchas amareladas de tecido plesionecrótico, têm aspecto clorótico, com cerca de 1-3 mm de comprimento. Essas lesões possuem formato retangular, bordos bem definidos e são delimitadas em largura pelas nervuras principais da folha, caracterizando bem a doença e permitindo fácil distinção. Em geral, lesões podem ser observadas aos 10 dias após a inoculação do patógeno (Reis et al., 2004). Aproximadamente aos 12 dias, as lesões adquirem aspecto oleoso e coloração marrom, iniciando-se o processo de necrose do tecido. Com 16 a 21 dias após a inoculação, os conidióforos emergem de dentro dos estômatos, e ocorre a formação dos conídios. Nesse estágio, as lesões apresentam coloração acinzentada.

Condições ambientais predisponentes

Estudos caracterizaram a faixa de temperatura de 22 a 28°C como condição predisponente ao progresso da cercosporiose (Shurtleff, 1992) e a umidade relativa próxima de 100%, na ausência de água livre na folha, como sendo fundamental para iniciar o processo infeccioso (Beckman e Payne, 1983; Ringer e Grybauskas, 1995). Alguns outros resultados, porém, destacaram que as horas de temperatura favorável e umidade relativa não tiveram efeito significativo na severidade da doença, caracterizando como incerta a relação entre a severidade e a duração do molhamento foliar (Bhatia e Munkvold, 2002). No mesmo contexto, a precipitação acumulada no início da safra foi caracterizada como fator correlacionado com níveis de infecção (Ringer e Grybauskas, 1995) e a faixa de temperatura de 25-30°C como a mais favorável à expansão das lesões e esporulação de *C. zea-maydis* (Paul e Munkvold, 2005). Na literatura brasileira, as informações são escassas, relatando-se como condições predisponentes a faixa de temperatura de 22-30°C, períodos prolongados de orvalho/neblina, alta umidade relativa e dias chuvosos (Reis et al. 2004).

2.3. A helmintosporiose do milho causada por *Exserohilum turcicum*

Histórico e importância

A helmintosporiose comum ocorre nas principais regiões produtoras de milho do mundo. Trabalhos têm sido realizados nos EUA (Pataky, 1992; Carson, 2006), África (Schechert et al., 1999), Brasil (Miranda et al., 2002), China (Dong et al., 2008), entre outros países. De tal sorte, a doença recebe diversos nomes comuns, por exemplo, helmintosporiose comum, queima do milho, Turcicum, *northern leaf blight*.

No Brasil, esta é a helmintosporiose prevalente dentre àquelas que ocorrem no milho (Reis et al., 2004). Entretanto, a importância da helmintosporiose causada por *E. turcicum* não se deve exclusivamente a ocorrência generalizada. Danos de rendimento devidos à doença são comuns quando sob condições ambientais favoráveis e genótipos com algum grau de susceptibilidade (Issa, 1983; Perkins e Pedersen, 1987).

Etiologia e taxonomia

A etiologia da helmintosporiose deve-se ao fungo anamórfico denominado *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs [sinônimo *Helminthosporium turcicum* (Pass.); *Bipolaris turcica* (Pass.) Shoemaker; *Drechslera turcica* (Pass.) Subram. E Jain]. A sua forma teleomórfica é *Setosphaeria turcica* (Luttr.) Leonard & Suggs.

Os conídios são fusiformes, obclavados a fusiformes ou cilíndricos, retos ou ligeiramente curvos, verde-cinza a oliváceo, com germinação em uma ou ambas células polares, raramente nas células intermediárias (Reis et al., 2004). Os conídios medem de 18-32 x 40-144 µm, com 4-9 septos (Reis et al., 2004).

Sintomatologia e ciclos de infecção

O ciclo primário de infecção da doença se dá por respingos de chuva e ventos sob restos culturais infectados, sendo que esta é a principal fonte de inóculo para a doença (Reis et al., 2004).

As lesões características da helmintosporiose são alongadas quanto maior a susceptibilidade do hospedeiro (de 2,5 a 15-20 cm), com aspecto elíptico e bordos bem delimitados, de coloração verde-acinzentada conforme a esporulação

do patógeno. Sob condições de infecções severas, as lesões coalescem ocasionando a seca prematura das folhas.

E. turcicum pode sobreviver colonizando folhas, bainhas e palha de espigas de plantas de milho, sendo portanto um fungo necrotrófico, capaz de se manter em restos culturais enquanto existir nutrientes e fonte de carbono (Reis et al., 2004).

Condições ambientais favoráveis

A infecção causada por *E. turcicum* é favorecida por temperaturas amenas, variando de 18°C a 27°C, com temperatura ótima de 20°C e umidades relativas de 90 a 100% (Shurtleff, 1992).

2.4. A ferrugem polissora causada por *Puccinia polysora*

Histórico e importância

A ferrugem polissora, causada pelo fungo *Puccinia polysora* Underw, é considerada a mais destrutiva das ferrugens que afetam a cultura do milho. A doença tem sido relatada em muitas áreas tropicais e subtropicais do mundo onde se cultiva o milho (Melching, 1975; Shurtleff, 1992) e é particularmente bem adaptada a ambientes onde prevalecem temperatura e umidade elevadas.

Em regiões tropicais do Brasil, incluindo os Cerrados e o sul do Brasil, *P. polysora* tem sido considerada de grande importância, predominando em regiões abaixo de 700 metros de altitude e em semeaduras a partir de outubro. Em regiões mais altas, a doença pode ocorrer com maior intensidade em plantios iniciados a partir de dezembro (Silva, 1997). Relatos mostram perdas por ferrugem polissora de 45-50% sob condições favoráveis (Rodrigues-Arnon et al., 1980). No Brasil, estas perdas atingiriam até 44,6% da produção em híbridos suscetíveis (Pinho et al., 1999).

Sintomatologia

Os sintomas caracterizam-se por pústulas de formato circular-ovalado, medindo de 0,2 a 2,0 mm, com coloração marrom clara à avermelhada e distribuídas predominantemente na face superior das folhas, mas também caules, bainhas e brácteas de espigas. Sob condições favoráveis e cultivares

susceptíveis, *P. polysora* pode causar a seca prematura das folhas e ocasionar redução acentuada no tamanho das espigas e dos grãos.

2.5. Melhoramento genético visando resistência a doenças foliares

A obtenção de genótipos resistentes a doenças é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento de milho. Para o produtor de milho, a resistência representa um asseguramento da lucratividade, dispensando o uso de fungicidas em aplicações foliares e garantindo ou minimizando danos de rendimento de grãos devidos à perda de área foliar fotossintetizante. Para o competitivo mercado de sementes, a resistência representa ainda mais trunfo mercadológico para as empresas.

Sob um enfoque biométrico, a resistência é fundamental para que as cultivares tenham ampla adaptabilidade de ambientes e boa estabilidade nas diferentes regiões produtoras. Sabidamente, as condições ambientais entre regiões são divergentes, influenciando na favorabilidade para a ocorrência e progresso de doenças. Cultivares resistentes a doenças poderão ser cultivadas sem maiores problemas em regiões que apresentam temperatura e umidade favorável às doenças; que, em geral, também o são para o crescimento, desenvolvimento e expressão do potencial produtivo do milho. Assim, genótipos de alto potencial produtivo, que necessitam de ambientes altamente favoráveis, devem deter genes de resistência às principais doenças para então aproveitar o estímulo ambiental e expressar seu potencial genético.

A resistência a doenças pode ser classificada entre horizontal (ou parcial) e vertical. Na resistência vertical, os genótipos detêm resistência completa à determinada doença, enquanto que, na presença de resistência horizontal, os genótipos expressam níveis de resistência. A resistência vertical, em geral, é advinda de um gene de grande efeito no fenótipo, ao passo que a resistência parcial (horizontal) é conferida pela ação conjunta de vários genes, podendo estes genes ser de efeitos aditivos e também de não-aditivos, ou seja, é poligênica.

Efeitos gênicos associados à resistência a doenças

Em milho, a resistência a doenças pode ser proveniente de genes de efeitos aditivos ou genes efeitos não-aditivos. Estes genes que condicionam

metabólitos inibidores (ou retardadores) ou barreiras estruturais para a entrada e desenvolvimento dos agentes patogênicos.

Os genes de efeitos aditivos, também chamados de genes aditivos, possuem pequenos efeitos que se somam e quando em grande número expressam fenótipo resistente, decorrente da ação conjunta destes genes e seus alelos. A expressão dos genes de efeitos aditivos no fenótipo confere níveis de resistência que variam de forma contínua, gerando uma distribuição fenotípica aproximada da distribuição normal à medida que maior for o número de genes envolvidos.

Os genes não-aditivos são resultantes de locus sob efeitos de dominância e epistasia. Acredita-se que a resistência conferida por genes de efeitos não-aditivos sofra pouca variação de expressão no fenótipo devidas às condições ambientais, uma vez que um ou poucos genes de grande efeito condicionam a característica (Cruz, 2005).

A determinação da significância e da predominância dos efeitos aditivos e não-aditivos é fundamental para que se decida quais são os métodos de melhoramento mais apropriados para obtenção de genótipos resistentes, superiores. Para isso, delineamentos genético-estatísticos como as análises dialélicas e de gerações têm sido utilizados (Cruz e Regazzi, 1993; Gevers et al., 1994; Pegoraro et al., 2002; Gordon et al., 2006). Com relação à predominância dos efeitos, em análises dialélicas, seguindo premissas de Kang (1994), a magnitude das somas de quadrados associadas à capacidade geral de combinação (referente a efeitos aditivos) e à capacidade específica de combinação (relativa à efeitos não-aditivos) são tomadas como referencial, principalmente em trabalhos fora do Brasil. No Brasil, as premissas de Cruz e Regazzi (1993), baseadas em componentes de variância associadas às capacidades geral e específica, têm sido bastante utilizadas para prover informações quanto às possibilidades de melhoramento usando cada tipo de efeito gênico.

Efeitos gênicos associados a resistência à cercosporiose, à helmintosporiose e à ferrugem polissora

Baseados em soma de quadrados e componentes quadráticos ou de variância, vários trabalhos têm relatado a predominância de genes de efeitos

aditivos, condicionando a resistência à cercosporiose (Manh, 1977; Huff et al. 1988, Elwinger et al., 1990; Thompson et al., 1990; Ulrich et al., 1990; Donahue et al., 1991; Gevers et al., 1994; Coates e White, 1998; Verma, 2001; Vanegas-Angaritas et al., 2007; Derera et al., 2008). Ademais, a existência de genes de efeitos não-aditivos na expressão desta característica também foi reportada; muito embora, em geral, estes efeitos de dominância e epistasia tenham sido de pequeno impacto para a característica, se comparado aos efeitos aditivos (Manh, 1977; Huff et al., 1988; Elwinger et al., 1990; Coates e White, 1994; Gevers et al., 1994; Hohls et al., 1995; Clements, 2000; Vanegas-Angaritas et al., 2007; Derera et al., 2008). Em suma, os genes de efeitos não-aditivos jamais foram superiores em magnitude aos de efeitos aditivos (Derera et al., 2008). A ainda sim, estes efeitos têm sido mais importantes em estádios iniciais e intermediários do ciclo das plantas de milho (Coates e White, 1998). Os efeitos recíprocos, referentes a genes extranucleares (citoplasmáticos e mitocondriais), foram verificados por Menkir e Ayodele (2005), indicando a utilização de linhagens resistentes como fêmeas; mas não por Derera et al. (2008). Ambos trabalhos foram realizados com o germoplasma africano de milho.

Para helmintosporiose, tanto os efeitos aditivos quanto os não-aditivos também têm se mostrado importantes (Sigulas et al., 1988; Welz e Geiger, 2000; Takamiya e Shigeyuki, 2000). Historicamente, de acordo com estudos sumarizados por Welz e Geiger (2000), os genes de efeitos dominantes, raça-específicos ou não – por exemplo, *Ht0*, *Ht1*, *Ht2*, *Ht3*, *ht4*, *Htm1*, *Htn1*, *NN*, são boas fontes para obtenção de linhagens resistentes.

No Brasil, trabalhos realizados no intento de estudar os efeitos gênicos relacionados à resistência à ferrugem polissora observaram que os genes de efeitos aditivos foram os mais importantes (Fantin, 1993; Silva et al., 2001). Porém, algumas combinações híbridas se mostraram promissoras, denotando que efeitos não-aditivos também contribuem para a resistência à doença (Silva et al., 2001), o que corrobora com a detecção dos genes raça-específicos *Rpp*, extensamente estudados na literatura (Ullstrup, 1965, 1977; Chaves-Medina e Lopes, 2007). No mais, estes efeitos não-aditivos foram consistentes nos diferentes ambientes, uma vez que não foram verificados efeitos da interação capacidade específica de combinação-ambientes (Silva et al., 2001).

Sob a predominância de efeitos aditivos, os métodos de melhoramento baseados em seleção recorrente são os mais indicados, pois os alelos desejados são concentrados no decorrer das gerações. Quando os efeitos não-aditivos predominam, a estratégia deve ser fundamentada na exploração da endogamia por seguidas gerações de autofecundações (ou mesmo por obtenção de plantas duplo-haplóide). Força-se assim a homozigose nos locus gênicos e seleciona-se as linhagens resistentes no decorrer das gerações de endogamia. Por exemplo, em gerações avançadas de endogamia (S_4 , S_5 ou mais), a grande parte dos locus estará em homozigose (93,75% em S_5) e a detecção dos genótipos com alelos favoráveis para a resistência à doença, sejam dominantes ou recessivos, poderá ser feita seguramente com base no fenótipo, uma vez que há pouca variabilidade para segregação nas próximas gerações de endogamia. Uma alternativa neste caso também é a transferência destes genes, usualmente dos genótipos resistentes para as linhagens-elites susceptíveis por meio de cruzamentos (*backcrosses*) e posterior recuperação das linhagens-elite recorrentes. Há de se lembrar que, sob efeitos de genes aditivos, os retrocruzamentos também podem ser utilizados, porém com alguns procedimentos adicionais. Considerando uma condição de relevância de genes de resistência sob efeitos aditivos e alelos sob efeitos de dominância, os métodos de seleção recorrente recíproca entre parentais podem ser indicados.

Avaliação da resistência a doenças foliares

A avaliação fenotípica confiável é fundamental para que se identifique variabilidade útil para o melhorista. Para a resistência a doenças em milho não é diferente. Distinguir a parte da variação fenotípica devida aos efeitos genéticos é o grande desafio para permitir maiores ganhos genéticos. Quanto mais precisa for a avaliação fenotípica de uma característica, menor será o erro experimental e maior a herdabilidade associada à ela, aumentando o ganho genético potencial a ser obtido.

A resistência à cercosporiose caracteriza-se pelo prolongamento dos períodos de incubação e latente da doença, pela redução do nível de infestação, resultando na diminuição do número de lesões, da capacidade de esporulação e formato de lesões (Beckam e Payne, 1982, 1983; Rynger e Grybauskas, 1995; Menkir e Ayodele, 2005). De modo geral, estas implicações no fenótipo se

verificam por meio de reduções de severidade, o que ratifica esta como o melhor critério de avaliação da resistência à cercosporiose.

A avaliação da resistência à cercosporiose pode ser feita facilmente utilizando escalas diagramáticas com diferentes níveis de severidade, tais como as propostas por Smith (1989) e Brunelli (2004); ou escalas descritivas, por exemplo a utilizada por Marrof et al. (1993) e Menkir e Ayodele (2005).

De forma semelhante ao supracitado, a avaliação da resistência à helmintosporiose pode ser feita com o auxílio de escalas diagramáticas de severidade (Pataky et al., 1992; Canteri et al., 1999; Miranda et al., 2002), e por meio do período latente e formato de lesões (Fernandes e Balmer, 2002; Carson, 2006). Sob condições de campo e infestações naturais do patógeno, as escalas diagramáticas são bastante utilizadas (Miranda et al., 2002).

Para a ferrugem polissora, dois tipos de resistência são observados: um primeiro, baseado em genes de grande efeito, raça-específicos (genes *Rpp*, Ullstrup, 1977; Chaves-Medina e Lopes, 2007), geralmente de herança do tipo não-aditiva dominante; um segundo tipo, baseado na ação conjunta de vários genes não-raça-específicos, normalmente advindo de genes de efeitos aditivos (também chamada de horizontal), tem como característica a redução da taxa da epidemia pela diminuição do número, tamanho das lesões e produção de uredósporos e do aumento do período de latência. Isso faz com que a população do patógeno seja drasticamente reduzida, diminuindo a quantidade de inóculo e, conseqüentemente, de doença (Scott e Zummo, 1989; Holland et al., 1998). Para avaliações de campo, as escalas diagramáticas podem fornecer auxílio para estimativas de severidade de ferrugem polissora (Amorim, 1995), tal como para as demais doenças foliares estudadas neste trabalho. Para caracterizar a resistência horizontal à ferrugem polissora, a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é o critério de maior confiabilidade, pois permite mensurar a capacidade dos genótipos em frear o desenvolvimento da doença (Bailey et al., 1987). Tal critério também é importante para a avaliação da resistência à helmintosporiose e à cercosporiose.

Melhoristas e fitopatologistas, por muitas vezes, utilizam escalas diagramáticas para avaliar níveis de infestação e resistência a doenças em condições de campo. Em geral, as escalas promovem ganhos de acurácia, precisão e reprodutibilidade nas avaliações e procedendo desta forma é possível

avaliar um grande número de genótipos de forma bastante confiável e despendendo um tempo razoavelmente pequeno.

Muito embora as escalas sejam bastante úteis por sua facilidade de utilização e melhoria nas avaliações, alguns pressupostos básicos, tais como: (i) delimitar as severidades mínima e máxima da doença em condições de campo; (ii) representar os sintomas fielmente e detalhadamente na escala; e (iii) tomar como base a acuidade humana, definidos pela lei de estímulo-resposta de Weber-Fechner, para elaborar os índices intermediários de severidade da escala, devem ser atendidos. Atualmente, para a helmintosporiose, causada pelo fungo *Exserohilum turcicum*, não há escalas que contemplem tais pressupostos.

2.5.1. Trabalhos de resistência a doenças em milho-pipoca no Brasil

A helmintosporiose comum, causada por *E. turcicum*, é um dos principais problemas fitopatológicos do milho-pipoca (Frosi, 1991; Miranda et al., 2002), o qual boa parte do germoplasma-elite é susceptível (Kamikoga et al., 1991; Fantin et al., 1991; Soares et al., 1993; Miranda et al., 2002; Vieira et al., 2009a; Vieira et al., 2009b; Vieira et al., 2009c). Contudo, há fontes de resistência para serem exploradas por melhoramento, tal como observados nas cultivares CMS42 e CMS43 – segregantes para resistência – (Miranda et al., 2002, 2003), no híbrido intervarietal *South American Mushroom* × Guarani (Kamikoga et al., 1990; Soares et al., 1993) – mesma origem do híbrido resistente IAC 112 (Cruz e Pereira Filho, 2008), no próprio IAC 112 e em novos híbridos experimentais (Vieira et al., 2009a).

Para demais doenças foliares, como mancha branca (*Phaeosphaeria maydis/Pantoea ananis*), helmintosporiose maydis (*Bipolaris maydis*), ferrugem-comum (*Puccinia sorghi*), ferrugem-polissora (*Puccinia polysora*), ferrugem-tropical (*Physopella zae*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), os trabalhos são escassos, podendo-se citar Fantin et al. (1993), Arnhold (2008), Vieira et al. (2009b, 2009c) e Sanches (2010).

As estimativas de parâmetros genéticos e de efeitos gênicos são ainda mais incipientes, sendo realizados apenas por Arnhold (2008) para helmintosporioses, ferrugem-comum e mancha branca; e Sanches (2010) para ferrugem-tropical.

2.6. Algumas metodologias de estudo da resistência a doenças

A avaliação de genótipos em cruzamentos é uma prática comum no melhoramento de plantas. Em milho, depois que Jones (1918) sugeriu a utilização comercial de híbridos duplos, a avaliação do potencial genético de linhagens para serem usadas em híbridos se baseou em todas as combinações possíveis (Hallauer e Miranda Filho, 1995). Desde então, outros procedimentos de cruzamentos, tais como top-crosses (Davis, 1927; Jenkins e Brunson, 1932) e dialelos (Sprague e Tatum, 1942; Jinks e Hayman, 1953; Griffing, 1956; Kempthorne e Curnow, 1961; Gardner e Eberhart, 1966), ganharam em importância.

Dentre estas metodologias, os cruzamentos dialélicos – dialelos – merecem destaque pela aplicabilidade e quantidade de informações que proporcionam. Os dialelos consistem do acasalamento entre genitores escolhidos (Griffing, 1956), provendo um conjunto particular de combinações híbridas de p genitores, sejam eles linhagens endogâmicas ou parcialmente endogâmicas, variedades de polinização aberta, compostos sintéticos ou clones. Para a avaliação dos híbridos provenientes de cruzamentos dialélicos, pode haver, ou não, a inclusão dos respectivos genitores, de seus híbridos recíprocos e até gerações segregantes (retrocruzamentos, F_2 's). Esse conjunto de genótipos avaliados (combinações híbridas e demais genótipos aparentados inclusos) é obtido no intento de atender a um delineamento genético-estatístico pré-estabelecido, permitindo uma série de estimativas e inferências a respeito do mérito genético destes genótipos e também quanto à característica em estudo.

Na tentativa de obter metodologias mais adequadas à realidade dos programas de melhoramento, algumas modificações das metodologias dialélicas de Griffing (1956) foram feitas. Dentre elas, os dialelos parciais e circulantes se destacam, consistindo do estudo de apenas uma amostra de todos os cruzamentos possíveis entre os progenitores disponíveis (Cruz e Regazzi, 1993). Nos dialelos circulantes, cada genitor de um grupo comum é representado por um mesmo número de combinações híbridas no dialelo, menor que o número máximo de combinações possíveis do dialelo completo (Cruz e Regazzi, 1993). Já os dialelos parciais consistem da obtenção das combinações híbridas possíveis entre dois grupos distintos de genitores.

A metodologia de dialelos parciais circulantes, que engloba características dos dialelos parciais e dos circulantes, foi desenvolvida por Kempthorne e Curnow (1961), e consiste da obtenção e avaliação de combinações híbridas entre dois grupos de genitores, sendo que cada genitor de um grupo de genitores comum é representado por um mesmo número de combinações híbridas, inferior ao número total de híbridos possível no dialelo parcial completo. Apesar de suas vantagens em relação ao reduzido número de cruzamentos necessários, a eficiência deste tipo de dialelo é muitas vezes questionada. Porém, estudos de simulação têm verificado sua aplicabilidade sem maiores impecílios (Veiga, 1998; Fuzatto, 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Análises dialélicas e efeitos gênicos da resistência à helmintosporiose e cercosporiose

Linhagens utilizadas e obtenção dos híbridos em esquema dialélico

Nove linhagens-elite de milho-pipoca, em oitava geração de autofecundação (S_8), obtidas de híbridos comerciais e variedades melhoradas de polinização aberta, foram cruzadas em esquema dialélico completo sem híbridos recíprocos, provendo 36 combinações híbridas (Quadro 1).

Para a obtenção dos híbridos, as linhagens foram semeadas sob espaçamento de 0,90 m entre linhas e 0,40 m entre plantas. No florescimento, as polinizações foram feitas manualmente para cada par de linhagens.

Experimentos realizados

Dois experimentos foram realizados. Um primeiro deles foi semeado durante a safra tradicional de milho, em outubro de 2008; o segundo experimento foi semeado em março de 2008, sob condições de segunda safra (safrinha). Em ambos os experimentos, os híbridos foram testados sob delineamento látice quadrado 6 x 6, com três repetições.

Os experimentos foram realizados em uma área experimental pertencente à Universidade Estadual de Maringá, em Maringá-PR, a 510 m de altitude. Todas as parcelas consistiram de uma linha de semeadura de 5 m com 25 plantas. As parcelas foram adubadas por ocasião da semeadura com 60 kg ha⁻¹ de K₂O, 30 kg ha⁻¹ de N, e 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e com 100 kg ha⁻¹ de N no estágio de crescimento V₄. Os tratos culturais, incluindo irrigação por aspersão, foram realizados conforme necessidade e seguindo as recomendações para a região Sul do Brasil. Aplicações de fungicidas não foram realizadas. As condições climáticas para os últimos 60 dias precedentes à avaliação de cada experimento são apresentadas na seção 'Anexos'.

Avaliações de severidade de cercosporiose e helmintosporiose

Em cada um dos experimentos, uma avaliação de severidade foi realizada no estágio de grão pastoso. Para cada parcela, quatro plantas e três folhas por

planta (folha da espiga, folha imediatamente abaixo da espiga e folha imediatamente acima da espiga), foram avaliadas individualmente quanto às severidades de cercosporiose e de helmintosporiose (ou seja, a porcentagem de área foliar afetada por cada doença). As severidades das doze folhas compuseram a média da parcela, referente ao tratamento *i*, no bloco *k* e na repetição *j* do látice. Para auxiliar as estimativas de severidade de cercosporiose foi utilizada a escala de Smith (1989), com classes de 2, 5, 10, 20, 35 e 50% de severidade. Para as estimativas de severidade de helmintosporiose, utilizou-se a nova escala diagramática, apresentada em um tópico seguinte desta dissertação.

Quadro 1 - Origem e reação das linhagens à helmintosporiose (*E. turcicum*, Ht) e cercosporiose (*Cercospora* spp, Cz).

Linhagens	Base genética		Reação ¹	
	genótipo	genealogia	Ht	Cz
1 (P ₁)	híbrido triplo Zélia/Pioneer	acessos tropicais e temperados	S ²	S ²
2 (P ₃)	variedade CMS-42/Embrapa	acessos tropicais	RI ³	nc
3 (P ₄)	variedade CMS-43/Embrapa	acessos tropicais	RI ³	nc
4 (P _{4,3})	variedade CMS-43/Embrapa	acessos tropicais	RI ³	nc
5 (P ₅)	variedade UEM-J1/UEM	acessos tropicais	RI ³	nc
6 (P ₇)	variedade UEM-M2/UEM	acessos tropicais	RI ³	nc
7 (P _{7,4})	variedade UEM-M2/UEM	acessos tropicais	RI ³	nc
8 (P ₈)	híbrido triplo 'Zaeli'	acessos temperados	nc	nc
9 (P ₉)	híbrido simples modificado IAC112/IAC	acessos tropicais e temperados	R ²	nc

¹R: resistente; RI: resistência intermediária; S: susceptível; nc: não conhecida. ² Conforme reação do genótipo-base (Cruz e Pereira Filho, 2008). ³ Esperado pelos sucessivo ciclos de seleção para outras características, relatados por Scapim et al. (2002).

Análises estatísticas

As pressuposições da análise de variância foram examinadas por meio dos testes de Bartlett (homogeneidade de variâncias entre tratamentos) e de Kolmogorov-Smirnov (normalidade dos erros). Para atendimento dos pressupostos, os dados foram transformados para a escala raiz de x.

Para todas as análises, os efeitos dos modelos matemáticos-estatísticos foram considerados aleatórios, excetuando-se a média geral.

As análises individuais (safra e safrinha) foram procedidas segundo o modelo látice modificado e análise do tipo interblocos com efeitos de tratamentos

e blocos/repetições ajustados. Para as análises individuais seguiu-se o seguinte modelo matemático-estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + r_j + (b / r)_{jk} + \varepsilon_{ijk},$$

em que:

Y_{ijk} : observação referente ao i-ésimo genótipo, na j-ésima repetição e no k-ésimo bloco; μ : média geral; g_i : efeito do i-ésimo genótipo; r_j : efeito da j-ésima repetição; $(b / r)_{jk}$: efeito do k-ésimo bloco alocado na j-ésima repetição; ε_{ijk} : erro experimental associado a Y_{ijk} .

Ao modelo anterior foram associadas as seguintes pressuposições e restrições:

$$\sum_{i=1}^g g_i = 0 \text{ e } \varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2).$$

Para averiguar a possibilidade das análises conjuntas, a significância a 5% pelo teste F máximo de Hartley foi tomada como critério decisório. Para análises conjuntas (ambientes de safra e safrinha), utilizando os valores ajustadas nas análises interblocos, considerou-se o delineamento em blocos completos com tratamentos ao acaso, adotando-se, portanto, o seguinte modelo estatístico-matemático:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + a_j + ga_{ij} + \varepsilon_{ij},$$

em que:

Y_{ij} : observação referente ao i-ésimo genótipo, na j-ésimo ambiente; μ : média geral; g_i : efeito do i-ésimo genótipo; a_j : efeito do j-ésimo ambiente; ga_{ij} : efeito da interação do i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente; ε_{ij} : erro experimental efetivo médio associado a Y_{ij} .

As seguintes pressuposições e restrições foram associadas ao modelo supracitado:

$$\sum_{i=1}^g g_i = 0, \sum_{i=1}^g ga_{ij} = 0, a_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2_a), ga_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2_{ga}) \text{ e } \varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2).$$

O esquema de análise de variância conjunta segue no Quadro 2.

Quadro 2 - Esquema utilizado para as análises dialéticas conjuntas, considerando efeitos aleatórios¹

Fonte de variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)	F
Genótipos	$i - 1$	QMGen	$\sigma^2 + r\sigma_{ga}^2 + ar\sigma_g^2$	QMGen/QMGenAm
Ambientes	$a - 1$	QMAmb	$\sigma^2 + r\sigma_{ga}^2 + ir\sigma_a^2$	QMAmb/QMR
Genótipos x ambientes	$(i-1)(a-1)$	QMGenAmb	$\sigma^2 + r\sigma_{ga}^2$	QMGenAmb/QMR
Resíduo	$\sum_{a=1}^a f$	QMR	σ^2	

¹QM: quadrado médio; i: número de genótipos; r: número de repetições; f: número de graus de liberdade do resíduo nas análises de variância individuais que precederam a análise dialética.

Com base nas esperanças de quadrados médios, os componentes de variância da análise de variância conjunta foram estimados da seguinte forma:

a) Componente de variância genética (conjunta): $\hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMGen - QMGenAmb}{ra}$,

em que: $QMGen$: quadrado médio de genótipos, $QMGenAmb$: quadrado médio da interação genótipos \times ambientes, r : número de repetições e a : número de ambientes.

b) Componente de variância da interação genótipos \times ambientes:

$$\hat{\sigma}_{ga}^2 = \frac{QMGenAmb - QMR}{r}$$

em que: $QMGenAmb$: quadrado médio da interação genótipos \times ambientes, QMR : quadrado médio do resíduo e r : número de repetições.

c) Componente de variância residual: $\hat{\sigma}^2 = \frac{QMR}{r}$, em que: QMR : quadrado médio do resíduo e r : número de repetições.

Por meio dos componentes de variância, foram estimados os seguintes parâmetros genéticos:

d) Herdabilidade média (sentido amplo): $\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}^2}$, em que: $\hat{\sigma}_g^2$ e $\hat{\sigma}^2$

são, respectivamente, os componentes de variância genética e de variância residual;

e) Coeficiente de variância genética (CVg): $CVg = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\hat{\mu}} \cdot 100$, em que: $\hat{\sigma}_g^2$:

componente de variância genética; e $\hat{\mu}$: média estimada;

f) Relação entre os coeficientes de variação genética e experimental

(CVg/CVe): $CVg/CVe = \frac{\frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\hat{\mu}} \cdot 100}{\frac{\sqrt{\hat{\sigma}^2}}{\hat{\mu}} \cdot 100}$, em que: $\hat{\sigma}_g^2$ e $\hat{\sigma}^2$ são, respectivamente, os

componentes de variância genética e de variância residual, e $\hat{\mu}$: média estimada.

As médias ajustadas das severidades de cercosporiose e helmintosporiose nos genótipos foram utilizadas para proceder às análises dialélicas individuais e conjuntas pela metodologia de Griffing (1956), método IV, modelo I. Por meio destas análises, a soma de quadrados de genótipos foi particionada entre efeitos de capacidade geral de combinação (CGC, relacionados a genes de efeitos predominantemente aditivos) e efeitos de capacidade específica de combinação (CEC, relacionados a genes de efeitos discrepantes à aditividade, ou seja, efeitos não-aditivos de dominância e epistasia) e suas respectivas interações com ambientes. O modelo adotado para as análises dialélicas individuais foi:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \varepsilon_{ij},$$

em que:

μ : média geral; g_i e g_j : efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) associados às linhagens i e j; s_{ij} : efeito da capacidade específica de combinação (CEC) entre as linhagens i e j; e ε_{ij} : erro experimental médio associado aos cruzamentos entre os genitores de ordem ij.

Expressando o modelo matemático sob a forma matricial, tem-se: $Y = X\beta + \varepsilon$, no qual Y é a matriz das observações, X é a matriz de incidência dos

parâmetros do modelo, β é a matriz dos parâmetros do modelo e ε consiste da matriz dos erros experimentais associados ao modelo, conforme segue:

$$Y = \begin{bmatrix} Y_{12} \\ Y_{13} \\ Y_{14} \\ Y_{15} \\ Y_{16} \\ Y_{17} \\ Y_{18} \\ Y_{19} \\ Y_{23} \\ Y_{24} \\ Y_{25} \\ \dots \\ Y_{ij} \end{bmatrix} \quad X = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ \dots & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 \end{bmatrix}$$

$$\varepsilon = \begin{bmatrix} \bar{\varepsilon}_{12} \\ \bar{\varepsilon}_{13} \\ \bar{\varepsilon}_{14} \\ \bar{\varepsilon}_{15} \\ \bar{\varepsilon}_{16} \\ \bar{\varepsilon}_{17} \\ \bar{\varepsilon}_{18} \\ \bar{\varepsilon}_{19} \\ \bar{\varepsilon}_{23} \\ \bar{\varepsilon}_{24} \\ \bar{\varepsilon}_{25} \\ \dots \\ \bar{\varepsilon}_{ij} \end{bmatrix} \quad \beta = \begin{bmatrix} \mu \\ g_1 \\ g_2 \\ g_3 \\ g_4 \\ g_5 \\ g_6 \\ g_7 \\ g_8 \\ g_9 \\ s_{12} \\ \dots \\ s_{ij} \end{bmatrix} \quad X'Y = \begin{bmatrix} Y_{..} \\ Y_{1.} \\ Y_{2.} \\ Y_{3.} \\ Y_{4.} \\ Y_{5.} \\ Y_{6.} \\ Y_{7.} \\ Y_{8.} \\ Y_{9.} \\ Y_{12} \\ \dots \\ s_{ij} \end{bmatrix}, \text{ em que: } Y_{..} = \sum_{i < j} \sum Y_{ij}, Y_{i.} = \sum_j Y_{ij} \text{ (} i \neq j \text{)} \text{ e } \sum_i Y_{i.} = 2Y_{..}$$

Embora o modelo apresentado tenha a solução convencional do sistema de equações normais, $\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'Y$, Cruz e Regazzi (1993) apresentaram as soluções para este sistema a partir da expansão algébrica dos elementos que compõem o vetor $X'Y$, considerando as seguintes restrições nas soluções e nos parâmetros, devido ao fato de $(X'X)$ não ser de posto coluna completo. As seguintes restrições foram associadas:

$$\sum_i \hat{g}_i = 0 \text{ e } \sum_i \hat{s}_{ij} = 0 \text{ para todo } i.$$

A expansão dos elementos que constituem a partição de $X'Y$ fornece o seguinte sistema de equações:

$$Y_{..} = \frac{p(p-1)}{2} \hat{\mu} + (p-1) \sum_i \hat{g}_i + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \sum \hat{s}_{ij} \quad (i)$$

$$Y_{i.} = (p-1) \hat{\mu} + (p-2) \bar{g}_i + \sum_j \bar{g}_j + \sum_j \hat{s}_{ij} \quad (ii)$$

$$Y_{ij} = \hat{\mu} + \hat{g}_i + \hat{g}_j + \hat{s}_{ij} \quad (iii)$$

Considerando as equações i, ii e iii, e as restrições, os parâmetros do modelo de análise dialélica individual podem ser estimados pelas seguintes expressões:

$$\hat{\mu} = \frac{2}{p(p-1)} Y_{..}$$

$$\hat{g}_i = \frac{1}{(p-2)} [Y_{i.} - (p-1) \hat{\mu}] = \frac{1}{(p-2)} \left[Y_{i.} - \frac{2}{p} Y_{..} \right] = \frac{1}{p(p-2)} [pY_{i.} - 2Y_{..}]$$

$$\hat{s}_{ij} = Y_{ij} - (\hat{\mu} + \hat{g}_i + \hat{g}_j) = Y_{ij} - \frac{1}{(p-2)} (Y_{i.} + Y_{.j}) + \frac{2}{(p-1)(p-2)} Y_{..}$$

As somas de quadrados dos efeitos de capacidade combinatória são estimadas pelo desdobramento do escalar $\hat{\beta}' X'Y$ em frações que correspondem ao produto dos elementos de $\hat{\beta}$ pelos elementos da partição de $X'Y$, tendo-se assim (Cruz e Regazzi, 1993):

$$\hat{\beta} = \begin{bmatrix} [\hat{\mu}] \\ [\hat{g}_i] \\ [\hat{s}_{ij}] \end{bmatrix} \text{ e } X'Y = \begin{bmatrix} [Y_{..}] \\ [Y_{i.}] \\ [Y_{ij}] \end{bmatrix}. \text{ Logo } \hat{\beta}' X'Y = \hat{\mu} Y_{..} + \sum_i \hat{g}_i Y_{i.} + \sum_{i < j} \sum \hat{s}_{ij} Y_{ij} \text{ e}$$

assim:

$$SQ(\hat{\mu}) = \frac{2}{p(p-1)} Y_{..}^2$$

$$SQ(G) = \sum \hat{g}_i Y_{i.} = \frac{1}{(p-2)} \sum Y_{i.}^2 - \frac{4}{p(p-2)} Y_{..}^2$$

$$SQ(S) = \sum \sum_{i < j} Y_{ij}^2 - \frac{1}{(p-2)} \sum Y_{i.}^2 + \frac{2}{(p-1)(p-2)} Y_{..}^2$$

O esquema para as análises dialélicas individuais é apresentado no Quadro 3.

Quadro 3 - Esquema utilizado para as análises dialélicas individuais, pelo método IV, modelo I, de Griffing (1956), considerando efeitos aleatórios¹

Fonte de variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)	F
Capacidade geral de combinação (CGC)	p-1	QM G	$\sigma^2 + \sigma^2_S + (p-2)\sigma^2_G$	$\frac{QMG}{QMS}$
Capacidade específica de combinação (CEC)	p(p-3)/2	QM S	$\sigma^2 + \sigma^2_S$	$\frac{QMS}{QMR}$
Resíduo	f	QM R	σ^2	

¹QM: quadrado médio; p: número de genitores; f: número de graus de liberdade do resíduo nas análises de variância individuais que precederam a análise dialélica.

As porcentagens da soma de quadrados de tratamentos devidas capacidades geral e específica de combinação foram calculadas conforme segue:

g) Porcentagem da soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade

geral de combinação: $\%SQG = \frac{SQG}{SQG + SQS} \cdot 100$, em que: *SQG*: soma de

quadrados de tratamentos devida à capacidade geral de combinação e *SQS*: soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade específica de combinação;

h) Porcentagem de da soma de quadrados de tratamentos devida

capacidade específica de combinação: $\%SQS = \%SQG - 100$, em que: *SQG*: soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade geral de combinação e

SQS : soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade específica de combinação.

Pelas esperanças de quadrados médios, os componentes de variância das análises dialélicas individuais foram estimados da seguinte forma:

i) Componente de variância genética aditiva: $\hat{\sigma}^2_G = \frac{QMG - QMS}{p - 2}$, em que:

QMG : quadrado médio associado à capacidade geral de combinação, QMS : quadrado médio associado à capacidade específica de combinação e p é o número de genitores do dialelo;

j) Componente de variância genética não-aditiva: $\hat{\sigma}^2_S = QMS - QMR$ em que:

QMS : quadrado médio associado à capacidade específica de combinação e QMR : quadrado médio do resíduo.

As porcentagens da variância genética devidas aos efeitos aditivos ($\hat{\sigma}^2_G$) e aos efeitos não aditivos ($\hat{\sigma}^2_S$) foram calculadas conforme segue:

k) Porcentagem de variância genética devida aos efeitos aditivos:

$$\% \hat{\sigma}^2_G = \frac{\hat{\sigma}^2_G}{\hat{\sigma}^2_G + \hat{\sigma}^2_S} \cdot 100$$

em que: $\hat{\sigma}^2_G$: componentes de variância aditiva, e $\hat{\sigma}^2_S$: componentes de variância não-aditiva;

l) Porcentagem de variância genética devida aos efeitos não-aditivos:

$$\% \hat{\sigma}^2_S = 100 - \% \hat{\sigma}^2_G;$$

m) Grau médio de dominância: $gmd = \sqrt{\frac{(\hat{\sigma}^2_S)^2}{\hat{\sigma}^2_G}}$, em que: $\hat{\sigma}^2_G$: componentes

de variância aditiva e $\hat{\sigma}^2_S$: componentes de variância não-aditiva;

Para as análises dialélicas conjuntas, o modelo adotado foi o seguinte: $\bar{Y}_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + a_k + ga_{ik} + ga_{jk} + sa_{ijk} + \bar{\epsilon}_{ij}$, em que: μ : média geral; g_i e g_j : efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) associados às linhagens i e j ; s_{ij} : efeito da capacidade específica de combinação (CEC) entre as linhagens i e j ; ga_{ik} : interação entre CGC da i -ésima linhagem e o k -ésimo ambiente; ga_{jk} : interação entre a CGC da j -ésima linhagem e o k -ésimo ambiente; sa_{ijk} : interação entre a CEC do híbrido das linhagens i e j e o k -ésimo ambiente; e $\bar{\epsilon}_{ij}$: erro experimental médio associado ao tratamento de ordem ij .

As seguintes restrições foram associadas ao modelo de análise dialélica conjunta:

$$\sum_i \hat{g}_i = 0, \sum_i \hat{s}_{ij} = 0 \text{ para todo } i \text{ e } \sum_i ga_{ik} = 0 \text{ dentro de um mesmo genitor } i.$$

Para a obtenção das somas de quadrados das interações CGC \times ambientes e CEC \times ambientes foi utilizando o procedimento apresentado por Vencovsky e Barriga (1992), que se baseia na seguinte expressão geral:

$$SQ \text{ Genótipos } \times \text{ ambientes} = \sum_{k=1}^a SQGenótipo \ s / A_k - SQGenótipo \ s,$$

em que:

$SQGenótipos / A_k$: é obtida da análise dos dados do ambiente k e $SQGenótipo \ s$ é obtida da análise realizada com as médias gerais envolvendo todos os ambientes. Deste modo, para CGC \times ambientes e CEC \times ambientes tem-se:

$$SQ \ G \times \text{ ambientes (SQGa)} = \sum_{k=1}^a SQG / A_k - ar(SQG)$$

$$SQ \ S \times \text{ ambientes (SQSa)} = \sum_{k=1}^a SQS / A_k - ar(SQS)$$

Assim, como nas somas de quadrados das capacidades geral e específica de combinação na análise dialélica individual, as somas de quadrados de CGC e CEC da análise dialélica conjunta, obtidas com médias gerais, além de

multiplicadas pelo número de ambiente (a), devem ser multiplicadas pelas *r* repetições. O esquema para as análises dialélicas conjuntas é apresentado no Quadro 4.

Quadro 4 - Esquema utilizado para as análises dialélicas conjuntas, pelo método IV, modelo I, de Griffing (1956), considerando efeitos aleatórios¹

Fonte_ de variação	Graus de liberdade	QM	F
Ambiente (A)	a-1	QMa	-
CGC	p-1	QMG	QMG/QMGa
CEC	p(p-3)/2	QMS	QMS/QMSa
CGC x A	(p-1) (a-1)	QMGa	QMGa/QMR
CEC x A	p(p-3)/2(a-1)	QMSa	QMSa/QMR
Resíduo	$\sum_{a=1}^a f$	QMR	

¹QM: quadrado médio; p: número de genitores; a: número de ambientes; f: número de graus de liberdade do resíduo nas análises de variância individuais que precederam a análise dialélica.

Para as análises dialélicas conjuntas, os seguintes parâmetros genéticos: CVg, a relação CVg/CVE e as porcentagens de soma de quadrados de tratamentos devidas às capacidades geral e específica de combinação; foram determinados tal como nas análises dialélicas individuais. As estimativas dos parâmetros supracitados foram utilizadas para auxiliar na escolha de estratégias de seleção e dimensionar as dificuldades inerentes à seleção para a resistência.

No intento de obter gerações segregantes com potencial para extrair novas linhagens com resistência conjunta às duas doenças, as médias de severidade de compostos biparentais *a* x *b*, triparentais *a* x *b* x *c*, triparentais (*a* x *b*) x *c*, e múltiplos *a* x *b* x *c* x *d* foram preditas. Foram adotados pesos 1 para CGC e para CEC na predição. Conforme Cruz (1997), as expressões de obtenção dos valores preditos (VP) seguem:

a) compostos biparentais:

$$VP = \hat{m} + \hat{g}_i + \hat{g}_j + \frac{1}{4}(\hat{s}_{ii} + \hat{s}_{jj} + \hat{s}_{ij})$$

b) compostos triparentais *a* x *b* x *c*:

$$VP = \hat{m} + \frac{1}{3}(\hat{g}_i + \hat{g}_j + \hat{g}_k) + \frac{1}{9}[\hat{s}_{ii} + \hat{s}_{jj} + \hat{s}_{kk} + 2(\hat{s}_{ij} + \hat{s}_{ik} + \hat{s}_{jk})]$$

c) compostos triparentais $(a \times b) \times c$:

$$VP = \hat{m} + \frac{1}{2}(\hat{g}_i + \hat{g}_j + \hat{g}_k) + \frac{1}{16}(\hat{s}_{ii} + \hat{s}_{jj} + 4\hat{s}_{kk} + 2\hat{s}_{ij} + 4\hat{s}_{ik} + 4\hat{s}_{jk})$$

d) compostos quádruplos $a \times b \times c \times d$:

$$VP = \hat{m} + \frac{1}{2}(\hat{g}_i + \hat{g}_j + \hat{g}_k + \hat{g}_m) + \frac{1}{16}(\hat{s}_{ii} + \hat{s}_{jj} + \hat{s}_{kk} + \hat{s}_{mm} + 2(\hat{s}_{ij} + \hat{s}_{ik} + \hat{s}_{im} + \hat{s}_{jk} + \hat{s}_{jm} + \hat{s}_{km}))$$

em que:

\hat{m} : média geral; efeitos de capacidade geral de combinação $(\hat{g}_i, \hat{g}_j, \hat{g}_k, \hat{g}_m)$ referentes as linhagens i, j, k e m; efeitos de capacidade específica de combinação $(\hat{s}_{ij}, \hat{s}_{ik}, \hat{s}_{im}, \hat{s}_{jk}, \hat{s}_{jm}, \hat{s}_{km})$; efeitos s_{ii} $(\hat{s}_{ii}, \hat{s}_{jj}, \hat{s}_{kk}, \hat{s}_{mm})$.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (Cruz, 1997).

3.2. Análise de um dialelo parcial circulante para resistência à ferrugem polissora

O experimento foi implementado na primeira quinzena de dezembro de 2006, em área pertencente à Universidade Estadual de Maringá (23°21' de latitude Sul, 52°04' de longitude Oeste e 510 m de altitude), Maringá-PR. O delineamento adotado foi o de blocos completos balanceados com tratamentos ao acaso, com três repetições por tratamento.

As parcelas experimentais consistiram de uma linha de semeadura de 5,0 m de comprimento, considerada para as avaliações. As parcelas receberam adubação padrão de 20 kg ha⁻¹ de N, 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 60 kg ha⁻¹ de K₂O na semeadura e, 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura no estádio V₄. O espaçamento entre linhas foi de 0,90 m, com densidade de cinco plantas por metro linear após desbaste. Os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade, seguindo as recomendações para a cultura do milho. As condições climáticas para os últimos 60 dias precedentes à última avaliação do experimento são apresentadas na seção 'Anexos'.

Os tratamentos avaliados consistiram de 15 híbridos simples de milho-pipoca, obtidos de cruzamentos dialélicos em esquema parcial circulante balanceado de 5 linhagens S₈ extraídas de populações segregantes do híbrido IAC 112 (medianamente susceptível à ferrugem polissora; genealogia temperada

e tropical) com 5 linhagens extraídas de populações segregantes do material 'Zaeli' (genealogia temperada desconhecida) (Quadro 5). No dialelo, cada genitor foi representado por três combinações híbridas. Três tratamentos-testemunha, (IAC 112 e BRS-Angela – medianamente susceptíveis à ferrugem polissora; e Jade – susceptível à ferrugem polissora; Cruz e Pereira Filho, 2008) estiveram também presentes no experimento e serviram como referencial de comparação para os valores observados nas combinações híbridas das linhagens.

Quadro 5 - Linhagens e híbridos simples de milho-pipoca envolvidos nos cruzamentos dialélicos em esquema parcial circulante balanceado, com três combinações híbridas por genitor

Linhagens	Grupo 2-Zaeli				
	1' (P _{8.5})	2' (P _{8.2})	3' (P _{8.4})	4' (P _{8.1})	5' (P _{8.6})
<i>Grupo 1-IAC 112</i>					
1 (P _{9.22})	D75	D57	D69		
2 (P _{9.27})		D59	D71	D53	
3 (P _{9.1})			D73	D55	D85
4 (P _{9.24})	D76			D52	D82
5 (P _{9.20})	D78	D60			D84

A severidade de ferrugem polissora foi avaliada sob condições naturais de infestação, em três avaliações iniciadas aos quinze dias após o florescimento, em intervalos de 12 dias. Em cada parcela, cinco plantas foram amostradas e identificadas na primeira avaliação. Em cada planta foram avaliadas três folhas (folha localizada na altura da espiga, folha localizada imediatamente abaixo e folha imediatamente acima da espiga). Para auxiliar as estimativas de severidades, utilizou-se a escala de Cobb, para ferrugem da folha- do trigo (Amorim, 1995). As severidades nas três avaliações foram utilizadas para estimar a evolução das doenças nos híbridos do dialelo por meio da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pelo procedimento apresentado por Campbell e Madden (1990), conforme segue:

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

em que:

Y_i e Y_{i+1} são, respectivamente, as severidades nas avaliações i e $i+1$ ($i, i+1, \dots, n$); e t_i e t_{i+1} são respectivamente, as datas das avaliações i e $i+1$, em dias após a primeira avaliação.

As severidades nas duas últimas avaliações (80 e 92 dias após a semeadura) e a AACPD foram examinadas quanto à homogeneidade das variâncias e a normalidade dos erros, respectivamente, pelos testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov, a 5% de probabilidade. Transformações de dados não foram necessárias. Na seqüência, estas variáveis-resposta foram submetidas à análise de variância paramétrica, considerando o modelo matemático-estatístico para o delineamento de blocos completos com tratamentos ao acaso, conforme segue:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + \varepsilon_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : observação referente ao i -ésimo genótipo, no j -ésimo bloco; μ : média geral; g_i : efeito do i -ésimo genótipo; b_j : efeito da j -ésimo bloco; ε_{ij} : erro experimental associado a Y_{ij} . Para tal análise foram considerados efeitos aleatórios das fontes de variação do modelo.

Os componentes de variâncias associados ao modelo foram estimados conforme segue:

a) Componente de variância genética: $\hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMGen - QMR}{r}$, em que: $QMGen$

: quadrado médio de genótipos, QMR : quadrado médio do resíduo, e r : número de repetições;

b) Componente de variância residual: $\hat{\sigma}_r^2 = \frac{QMR}{r}$, em que: QMR : quadrado

médio do resíduo e r : número de repetições.

Por meio das estimativas dos componentes de variância, foram estimados os seguintes parâmetros genéticos:

c) Herdabilidade no sentido amplo: $\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}^2}$, em que $\hat{\sigma}_g^2$ e $\hat{\sigma}^2$ são,

respectivamente, os componentes de variância genética e de variância residual. **d)**

Coefficiente de variância genética (CVg): $CVg = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\hat{\mu}} \cdot 100$, em que: $\hat{\sigma}_g^2$:

componente de variância genética; e $\hat{\mu}$: média estimada;

e) Relação entre os coeficientes de variação genética e experimental

(CVg/CVe): $CVg/CVe = \frac{\frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\hat{\mu}} \cdot 100}{\frac{\sqrt{\hat{\sigma}^2}}{\hat{\mu}} \cdot 100}$, em que: $\hat{\sigma}_g^2$ e $\hat{\sigma}^2$ são, respectivamente, os

componentes de variância genética e de variância residual, e $\hat{\mu}$: média estimada.

As médias das variáveis-resposta e seus respectivos quadrados médios foram utilizadas para proceder as análises dialélicas, seguindo o modelo de dialelo parcial circulante, de Kempthorne e Curnow (1961). Para isso, foi considerado o seguinte modelo estatístico-matemático:

$$\bar{Y}_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \bar{\varepsilon}_{ij}$$

em que:

μ : média geral; g_i e g_j : efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) associados às linhagens i (grupo 1-IAC 112) e j (grupo 2-Zaeli); s_{ij} : efeito da capacidade específica de combinação (CEC) entre as linhagens i e j ; e $\bar{\varepsilon}_{ij}$: erro experimental médio associado aos cruzamentos entre os genitores de ordem ij .

Para tal análise, o modelo matricial consistiu de $Y = X\beta + \varepsilon$, no qual, Y é a matriz das observações; X é a matriz de incidência dos parâmetros do modelo; β é a matriz dos parâmetros do modelo e ε consiste da matriz dos erros experimentais. As estimativas dos parâmetros do modelo foram obtidas pelo método dos quadrados mínimos, onde foi utilizada a solução de $\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'Y$ e

as seguintes restrições: $\sum_i \hat{g}_i = 0$ e $\sum_j \hat{g}_j = 0$.

As porcentagens de soma de quadrados devidas aos efeitos de capacidades geral e específica de combinação foram calculados da seguinte forma:

f) Porcentagem de soma de quadrados de tratamentos devida capacidade

geral de combinação: $\%SQG = \frac{SQG}{SQG + SQS} \cdot 100$, em que: SQG : soma de

quadrados de tratamentos devida à capacidade geral de combinação e SQS : soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade específica de combinação;

g) Porcentagem de da soma de quadrados de tratamentos devida capacidade específica de combinação: $\%SQS = \%SQG - 100$, em que: SQG :

soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade geral de combinação e SQS : soma de quadrados de tratamentos devida à capacidade específica de combinação.

As análises estatísticas foram procedidas com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2005).

3.3. Uma nova escala diagramática para avaliar a severidade de helmintosporiose do milho

Oitenta folhas de milho-pipoca, com diferentes níveis de severidade de helmintosporiose, foram coletadas em uma área experimental pertencente à Universidade Estadual de Maringá, em Maringá-PR. A severidade real existente em cada uma das oitenta folhas foi mensurada com o programa Quant v.1.0.1. Os menores e maiores valores de severidade foram utilizados como limites inferior e superior da nova escala. Os níveis da escala compreendidos entre os limites inferior e superior foram definidos de acordo com a acuidade humana, baseada na lei de Weber-Fecher e suas relações logarítmicas entre estímulo visual e resposta.

Para validar a nova escala e compara-lá com as demais metodologias testadas, oito avaliadores (sendo quatro deles experientes em avaliações de doenças de plantas e quatro deles inexperientes) avaliaram a severidade de helmintosporiose em fotografias de quarenta das oitenta folhas coletadas.

Inicialmente, os avaliadores avaliaram sem utilizar escalas. Em seguida, os avaliadores fizeram avaliações na seguinte seqüência: (i) utilizando a escala de Canteri et al. (1999); (ii) utilizando a escala de Pataky (1992); e (iii) utilizando a nova escala proposta neste estudo.

A precisão e a acurácia das avaliações foram examinadas por meio de análises de regressão linear simples, utilizando as severidades reais (mensuradas pelo programa Quant) e as severidades estimadas utilizando cada metodologia (nova escala, escala de Pataky, escala de Canteri e sem usar escalas). As análises foram feitas para cada um dos avaliadores. Para isso, foi seguido o seguinte modelo estatístico-matemático:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i,$$

em que:

Y_i : i-ésimo valor de severidade estimada utilizando as metodologias de avaliação, β_0 e β_1 : são os parâmetros ou coeficientes linear e angular, respectivamente, da regressão; X_i : i-ésimo valor de severidade real (variável preditora), mensurada pelo Quant, ε_i : erro experimental associado a Y_i . Como pressuposições deste modelo tem-se:

$$\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2) \text{ e } \sigma(\varepsilon_i \text{ as } \varepsilon_j) \text{ igual a } 0 \text{ para todo } i \text{ e } j.$$

A precisão das estimativas foi mensurada pelo (i) coeficiente de determinação (R^2), vindo da análise de regressão; (ii) pelos resíduos entre as severidades real e estimada; e (iii) pelo quadrado médio do resíduo (QMR). No intento de examinar a acurácia, as estimativas dos parâmetros β_0 (coeficiente linear) e β_1 (coeficiente angular) da análise de regressão foram testadas quanto à significância por meio do teste t , considerando as hipóteses de nulidade $H_0: \beta_0 = 0$ e $H_0: \beta_1 = 1$. Aceitar estas hipóteses implica em acurácia. Os parâmetros β_0 e β_1 são, respectivamente, análogos à 'a' e 'b', utilizados por alguns outros autores de trabalhos com escalas diagramáticas. A reprodutibilidade das estimativas utilizando cada metodologia foi examinada pelo desvio-padrão ($\hat{\sigma}$) dos valores de R^2 , β_0 , β_1 e QMR, calculado entre os oito avaliadores, conforme segue:

$$\hat{\sigma}_{R^2} = \sqrt{\frac{\sum_{a=1}^A (R^2_a - \bar{R}^2)^2}{a-1}}, \quad \hat{\sigma}_{\beta_0} = \sqrt{\frac{\sum_{a=1}^A (\beta_{0a} - \bar{\beta}_0)^2}{a-1}}, \quad \hat{\sigma}_{\beta_1} = \sqrt{\frac{\sum_{a=1}^A (\beta_{1a} - \bar{\beta}_1)^2}{a-1}} \text{ e}$$

$$\hat{\sigma}_{QMR} = \sqrt{\frac{\sum_{a=1}^A (QMR_a - QMR_{\text{médio}})^2}{a-1}}$$

em que: a = avaliadores.

Os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o módulo STAT do programa SAS versão 9.1 para Windows (SAS Institute, Cary, NC).

3.4. Screening inicial de híbridos de milho-pipoca quanto à resistência a doenças

O experimento foi implementado na segunda quinzena de outubro de 2007, em Maringá-PR, em uma área pertencente à Universidade Estadual de Maringá (23°21' de latitude Sul, 52°04' de longitude Oeste e 510 m de altitude. O delineamento adotado foi o de blocos incompletos desbalanceados com tratamentos ao acaso, com duas a quatro repetições por tratamento.

As parcelas experimentais consistiram de três linhas de semeadura de 5,0m de comprimento, sendo considerada a linha central para as avaliações. Todas as parcelas receberam adubação padrão de 20 kg ha⁻¹ de N, 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 50 kg ha⁻¹ de K₂O na semeadura e, 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura no estádio V₄. O espaçamento entre linhas foi de 0,90 m, com densidade de cinco plantas por metro linear após desbaste. Os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade, seguindo as recomendações para a cultura do milho. As condições climáticas para os últimos 60 dias precedentes à última avaliação do experimento são apresentadas na seção 'Anexos'.

Os tratamentos avaliados consistiram de 42 novos híbridos simples de milho-pipoca, desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento de Milhos Especiais da UEM, e três híbridos comerciais de milho-pipoca (IAC 112, Zélia e Jade).

As severidades de helmintosporiose e cercosporiose foram avaliadas sob condições naturais de infestação, em quatro avaliações realizadas em intervalos regulares de 15 dias, iniciadas logo após o florescimento. Em cada parcela,

quatro plantas foram amostradas e identificadas na primeira avaliação. Em cada planta foram avaliadas três folhas (folha localizada na altura da espiga, folha localizada imediatamente abaixo e folha imediatamente acima da espiga). As severidades nas quatro avaliações foram utilizadas para estimar a evolução das doenças nos genótipos por meio da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pelo procedimento apresentado por Campbell e Madden (1990):

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

em que:

y_i e y_{i+1} são, respectivamente, as severidades nas avaliações i e $i+1$ ($i, i+1, \dots, n$); e t_i e t_{i+1} são respectivamente, as datas das avaliações i e $i+1$, em dias após a primeira avaliação.

Para os valores de AACPD dos tratamentos, a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos erros foram examinadas, respectivamente, pelos testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov, a 5% de probabilidade. Uma vez que estes pressupostos não foram atendidos, tanto utilizando os dados originais como dados transformados para escalas usuais (raiz de x e log de x), optou-se pela abordagem dos dados por meio de estatística não-paramétrica.

Inicialmente, para cada doença, dentro de cada combinação de folhas ($k = 1, 2$ e 3) e blocos ($j = 1, 2, 3$ e 4), os valores de AACPD nos genótipos foram ranqueados por meio da atribuição de postos, sendo que os menores valores receberam os menores postos e valores iguais de AACPD receberam o posto médio entre eles. Em seguida, todo posto do genótipo i , para a combinação folha k e bloco j , foi dividido pelo número de genótipos do respectivo bloco j , vez que o delineamento experimental foi de blocos incompletos com tratamentos desbalanceados. Esses procedimentos fizeram com que os postos dos genótipos dentro de um bloco j e folha k variassem entre 0 e 1, o que permitiu anular os efeitos de blocos e de folhas, fornecendo condições para o estudo das diferenças entre postos de genótipos por meio do teste de Kruskal-Wallis. Pelo teste de Kruskal-Wallis foram averiguadas as hipóteses H_0 : os postos médios dos genótipos não diferem estatisticamente a 10% de probabilidade ($p > 0,10$); e H_1 :

um ou mais postos médios de genótipos difere estatisticamente dos demais a 10% de probabilidade ($p < 0,10$).

Para aplicar a regra decisória do teste de Kruskal-Wallis, foi calculado o valor H , conforme segue:

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \left(\frac{T^2_{t_1}}{n_1} + \frac{T^2_{t_2}}{n_2} + \frac{T^2_{t_3}}{n_3} + \dots + \frac{T^2_{t_i}}{n_i} \right) - 3(n+1)$$

em que:

$T^2_{t_i}$: total de postos ao quadrado do tratamento i ; n_i : número de postos do tratamento i . n : número total de postos. O número de graus de liberdade associado a H é $i - 1$, onde i é o número de tratamentos. A significância de H é verificada por meio da distribuição qui-quadrado. Se H supera o valor tabelado de qui-quadrado, é razoável rejeitar a hipótese de nulidade H_0 .

Em seguida, os postos atribuídos à AACPD de cada doença nos novos híbridos foram utilizados para compará-los com os tratamentos-testemunha, de reação conhecida às doenças estudadas, por meio do teste de Wilcoxon para amostras pareadas. Para a realização deste teste, a amostra de cada tratamento i (híbridos experimentais), composta pelos seus respectivos postos nas jk combinações de blocos e folhas, foi emparelhada com a amostra do tratamentos-testemunha de reação conhecida as doenças (IAC 112 ou Zélia), nas mesmas jk combinações. Híbridos experimentais com quatro repetições foram emparelhados com as quatro respectivas repetições dos tratamentos-testemunha, ao passo que os híbridos experimentais com três e duas repetições foram emparelhados, respectivamente, com as duas e três repetições dos tratamentos-testemunha. As hipóteses estatísticas do teste de Wilcoxon foram: H_0 : os postos dos tratamentos i (híbrido experimental i) e j (um dos tratamentos-testemunha) não diferem estatisticamente ($p > 0,10$); e H_1 : os postos dos tratamentos i e j diferem entre si ($p < 0,10$). A utilização dos postos e não dos valores originais de AACPD foi preferida, uma vez que a ponderação dos postos pelo número de genótipos do respectivo bloco j – dentro da combinação jk de blocos e folhas – anulou as fontes de variação blocos e folhas.

A estatística do teste de Wilcoxon foi feita da seguinte forma: (i) para cada par de amostras emparelhadas foram calculadas as diferenças (d_i) entre os postos das variáveis-resposta (AACPD helmintosporiose e AACPD cercosporiose) e então atribuídos novos postos para os valores absolutos de d_i , sendo a média do posto atribuída aos postos empatados; (ii) os valores absolutos dos postos positivos e dos postos negativos foram somados; (iii) foi atribuído os sinais + para os postos d_i positivo e – para postos com d_i negativo; (iv) na seqüência, foi calculado T , que consiste da menor soma de postos (ou da soma de postos negativos ou da soma de postos positivos); (v) quando $n \leq 25$, em que: n é o tamanho da amostra, a determinação da significância de T é feita comparando com os valores de T crítico tabelado por Wilcoxon. A hipótese de nulidade H_0 deve ser rejeitada nas situações em que: $T < T$ crítico, sob n e nível α de significância da análise. Para as análises deste estudo, optou-se pela por valores de T crítico para o teste bicaudal, uma vez que as amostras do tratamento i podem ser significativamente ($p < 0,10$) inferiores ou significativamente superiores ($p < 0,10$) às amostras dos tratamentos-testemunha j .

Utilizando as significâncias do teste de Wilcoxon, foram atribuídos *valores de avanço* de híbridos quanto à sanidade dos híbridos. Para helmintosporiose, estes valores consistiram em atribuir (i) valores de **2** para os novos híbridos que diferiram estatisticamente do híbrido resistente IAC 112 e do híbrido susceptível Zélia, apresentando postos inferiores; (ii) valores **1** para novos híbridos que não diferiram estatisticamente de IAC 112 e diferiram do híbrido susceptível Zélia apresentando posto inferior; e (iii) valores de **0** para híbridos que diferiram estatisticamente do híbrido resistente IAC 112 apresentando médias superiores e, ou não diferiram do híbrido susceptível Zélia. Para cercosporiose, os valores de avanço dos novos híbridos foram (i) de **1** quando não diferiram das testemunhas medianamente susceptíveis, IAC 112 e Zélia – que tiveram comportamento semelhante neste experimento, considerados portanto medianamente susceptíveis; (ii) **0,5** para híbridos que diferiram apenas de IAC 112 ou Zélia; e (iii) **0** quando diferiram estatisticamente apresentando médias superiores à IAC 112 e Zélia. A soma dos valores de avanço (SVdA) foi utilizada para definir quais os novos híbridos de melhor sanidade às duas doenças e que poderão ser avaliados em etapas subseqüentes do programa.

Para as duas doenças foram estimadas correlações de Spearman entre as severidades das três últimas avaliações e os valores de AACPD. A opção pela metodologia de Spearman se deu frente ao não atendimento dos pressupostos de homogeneidade de variância e normalidade dos erros. Com isso, pretendeu-se averiguar quão próximas da AACPD – considerado o critério mais fidedigno para avaliar a resistência por agregar todas as avaliações – foram as informações providas por cada uma das avaliações.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o módulo STAT do software SAS 9.1, versão para Windows (SAS Institute, Cary, NC).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises dialélicas e efeitos gênicos da resistência à helmintosporiose e cercosporiose

Análises de variância, médias fenotípicas e parâmetros genéticos

Em todas as análises individuais de variância, verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,10$) para as severidades de helmintosporiose e cercosporiose (Quadro 6). Isso demonstra a existência de variabilidade genética entre as combinações híbridas e, por conseguinte, entre as linhagens que as constituíram.

Quadro 6 - Análises individuais de variância para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios			
		helmintosporiose		cercosporiose	
		safra	safrinha	safra	safrinha
Genótipos (aj.)	35	3,0873*	2,1848*	0,6578*	0,7088*
Blocos/repetições (aj.)	15	0,6815	0,4711	0,3169	8,4872
Repetições	2	0,4750	0,4004	1,1447	0,0935
Resíduo efetivo	55	0,2566	0,4163	0,1238	0,1014
Média original		12,23	10,53	2,73	3,42
Média transformada		3,3037	3,0907	1,5542	1,7663
CVe (%)		29,40	20,88	22,64	18,02
$F_{máx_{calc}}$		1,62 ¹		0,82 ¹	
$F_{máx_{tab}}$ (glres=55, 2 amb., $\alpha=0,05$)		1,74			

* $p < 0,10$, pelo teste F. ¹ $F_{máx_{calc}} < F_{máx_{tab}}$: não rejeita-se H_0 – a variância dos experimentos não difere ($p > 0,05$).

As médias híbridas para severidade das doenças variaram da seguinte forma (Quadro 6): a) para helmintosporiose, de 3,21 ($P_8 \times P_9$) a 39,11% ($P_1 \times P_{7.4}$) na safra, e de 2,19 ($P_8 \times P_9$) a 23,99% ($P_1 \times P_{7.4}$) na safrinha; b) para cercosporiose, de 0,51 ($P_{4.3} \times P_8$) a 6,11% ($P_5 \times P_9$) na safra, e de 1,06 ($P_3 \times P_{4.3}$) a 10,33% ($P_7 \times P_9$) na safrinha. As médias das combinações híbridas com contribuição gamética de cada linhagem nos ambientes de maior intensidade de cada doença (Quadro 7) auxiliam na mensuração das diferenças entre as

linhagens genitoras: a) helmintosporiose na safra, de 6,48% para híbridos com contribuição da linhagem 9 à 20,92% para híbridos da linhagem 1; b) cercosporiose na safrinha: de 2,11%, para híbridos com contribuição da linhagem 2, a 5,46% para híbridos da linhagem 9. Em resumo, neste estudo, verificou-se uma condição favorável à aplicação de métodos de melhoramento, embasada nos diferentes níveis de resistência proporcionados pelas linhagens em seus respectivos híbridos e na significância destas diferenças ($p < 0,10$).

Quadro 7 - Médias originais de severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), na safra (acima da diagonal) e na safrinha (abaixo da diagonal), em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Linhagens ¹	helmintosporiose									Média ²
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1		23,65	28,43	18,19	15,07	21,36	39,11	11,02	10,54	20,92
2	21,03		6,76	11,63	9,83	10,86	20,61	6,93	5,78	12,01
3	17,63	10,42		8,07	11,99	10,54	26,34	6,10	4,32	12,82
4	14,44	10,11	13,33		10,78	12,20	12,91	3,83	8,24	10,73
5	10,72	9,31	15,04	13,32		8,94	13,17	6,13	3,86	9,97
6	7,43	10,68	14,72	9,93	11,54		18,70	6,91	7,11	12,08
7	23,99	21,72	20,23	18,69	10,69	7,83		8,35	8,74	18,49
8	5,24	2,20	6,08	3,80	6,49	6,47	8,85		3,21	6,56
9	6,98	6,73	7,03	6,36	7,12	6,47	4,11	2,19		6,48
Média ³	13,43	11,53	13,06	11,25	10,53	9,38	14,51	5,17	5,87	
Linhagens ¹	cercosporiose									Média ²
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1		0,67	1,78	0,70	4,45	2,62	1,51	1,57	2,78	2,01
2	2,63		1,77	1,28	4,15	4,40	2,13	0,88	2,00	2,16
3	1,80	1,53		3,06	5,21	3,64	2,91	1,31	2,38	2,76
4	1,81	1,06	1,36		4,04	2,48	2,43	0,51	1,48	2,00
5	3,01	2,30	3,58	2,67		5,10	3,57	2,06	6,11	4,34
6	2,63	2,02	3,32	1,89	4,41		3,87	2,35	6,01	3,81
7	1,95	2,32	2,11	2,45	5,50	6,50		1,89	4,38	2,84
8	4,41	1,39	2,60	2,92	1,81	4,47	4,78		0,72	1,41
9	4,50	3,61	2,69	3,44	5,33	10,33	7,83	5,97		3,23
Média ³	2,84	2,11	2,37	2,20	3,58	4,45	4,18	3,54	5,46	

¹ P₁: 1; P₃: 2; P₄: 3; P_{4,3}: 4; P₅: 5; P₇: 6; P_{7,4}: 7; P₈: 8; P₉: 9. ^{2 e 3} Médias dos híbridos com contribuição gamética da linhagem *i* (*i* = 1, 2, ..., 9) na safra e safrinha, respectivamente.

Uma vez que os quadrados médios dos resíduos, estimados nas análises de variâncias individuais, não revelaram a existência de heterogeneidade a 5% de probabilidade pelo teste F máximo de Hartley (Quadro 5), procederam-se às análises de variância conjunta, considerando os ambientes de safra e safrinha (Quadro 8). Para todas as características, diferenças significativas ($p < 0,10$) foram constatadas para os efeitos de genótipos, de ambientes e da interação genótipos-ambiente. A significância para o teste F da interação genótipos-ambiente é um indicador de que as médias das características devem ser estudadas em cada ambiente.

Quadro 8 - Análise conjunta de variância (ambientes: safra e safrinha) e parâmetros genéticos para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Fontes de variação	gl	Quadrados médios	
		helmintosporiose	cercosporiose
Genótipos (G)	35	4,5743*	0,9979*
Ambientes (A)	1	2,4491*	2,4300*
G x A	35	0,6979*	0,3686*
Resíduo efetivo	110	0,3365	0,1126
Média transformada		3,1972	1,6603
CVe (%)		18,14	20,21
$\hat{\sigma}^2_g$		0,6461	0,1049
$\hat{\sigma}^2_{ga}$		0,1205	0,0853
Herdabilidade média (sentido amplo)		0,85	0,74
CVg		25,14	19,51
CVg/Cve		1,39	0,97

* $p < 0,10$, pelo teste F.

Em geral, os valores de variabilidade genética ($\hat{\sigma}^2_g$) quando estimados em análises individuais (ou seja, um ambiente), são poucos conclusivos, uma vez que os efeitos da interação genótipo-ambiente os subestimam ou superestimam. Assim, os valores de $\hat{\sigma}^2_g$ da análise conjunta são melhores descritores das divergências dos genótipos devidas a fatores genéticos. Nesse contexto, as $\hat{\sigma}^2_g$ da análise conjunta reiteram a possibilidade de melhoramento para

helmintosporiose bem como para cercosporiose (Quadro 8). A significância dos efeitos da interação genótipo-ambiente e os valores de $\hat{\sigma}_{ga}^2$, relevantes frente aos valores de $\hat{\sigma}_g^2$, demonstraram a necessidade de um cuidado adicional na seleção visando à resistência, pois estes efeitos têm se mostrado determinantes na expressão do fenótipo. Para cercosporiose, esse cuidado deve ser reforçado, visto que as relações CVg/CVe são inferiores a 1 (Quadro 8) e indicam que variações aleatórias superam as variações decorrentes de efeitos genéticos; sugerindo a necessidade de delineamentos e avaliações mais precisas. Situação semelhante não ocorre para helmintosporiose, que possui relação CVg/CVe maior que 1, permitindo, de acordo com as premissas expostas por Vencovsky (1987), uma seleção mais facilitada e eficiente, se comparada à seleção para características com CVg/CVe inferior a 1.

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo para cada característica foram de 0,85 para helmintosporiose e 0,74 para cercosporiose (Quadro 8). Esses valores podem ser considerados favoráveis à seleção, pois estão próximos de 1 e estão em concordância com valores encontradas em demais trabalhos (Gevers et al., 1994; Gordon et al., 2006; Vanegas-Angaritas et al., 2007), indicando que grande parte das diferenças entre os híbridos é de causa genética e, portanto, herdáveis. Segundo Cruz (2004), sob condições de alta herdabilidade, tal como observado neste estudo, haverá alta correlação entre o valor fenotípico e o genotípico, de forma que as diferenças mensuradas entre os indivíduos traduzirão as verdadeiras diferenças genéticas, garantindo o sucesso da estratégia de seleção adotada.

Análises dialélicas e demais parâmetros genéticos

Em ambos os ambientes, as análises dialélicas indicaram a significância da capacidade geral de combinação (CGC) das linhagens para ambas as doenças, a 10% de probabilidade (Quadro 9). Isso revela a importância de genes de efeitos aditivos para a expressão destas características e que os alelos de uma ou mais linhagens se destacam das demais no tocante à resistência as doenças. A capacidade específica de combinação foi significativa ($p < 0,10$) para helmintosporiose, na safra e safrinha, e para cercosporiose apenas na safrinha, indicando que os desvios de comportamento dos híbridos em relação ao que seria

esperado com base na CGC de suas linhagens genitoras também foram relevantes para condicionar as médias fenotípicas das características (Quadro 9). Estes desvios de comportamento são medidas de efeitos gênicos não-aditivos (Cruz e Regazzi, 1993) e sua significância estatística indica que algumas combinações híbridas foram favoráveis para a redução da severidade das doenças, ou desfavoráveis, de forma mais acentuada.

Quadro 9 - Análises dialélicas individuais para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.) em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Fontes de variação	gl	Quadrados médios			
		helmintosporiose		cercosporiose	
		safra	safrinha	safra	safrinha
Genótipos	35	3,0874*	2,1849*	0,6578*	0,7087*
Capacidade geral de combinação (CGC)	8	11,6971*	7,0120*	2,3299*	2,2942*
Capacidade específica de combinação (CEC)	27	0,5363*	0,7546*	0,1623*	0,2389*
Resíduo	55	0,2565	0,4163	0,1238	0,1013
%SQCGC		87	73	81	74
%SQCEC		13	27	19	26
$\hat{\sigma}^2_G$		1,5944	0,8939	0,3097	0,2936
$\hat{\sigma}^2_S$		0,2798	0,3383	0,0385	0,1376
% $\hat{\sigma}^2_G$		85	72	88	68
% $\hat{\sigma}^2_S$		15	28	11	32
<i>gmd</i> ¹		0,22	0,36	0,07	0,25

* p < 0,10, pelo teste F. ¹Grau médio de dominância.

De maneira geral, pôde-se verificar que genes de efeitos aditivos, bem como genes de efeitos não-aditivos, condicionaram os níveis de resistência às duas doenças. Para cercosporiose, a detecção de efeitos significativos de CEC apenas na safrinha, ambiente de maior intensidade desta doença, sugere um nível de dependência entre maiores intensidades de cercosporiose e a manifestação de genes efeitos não-aditivos. Por conseguinte, pode-se hipotetizar que estes efeitos sejam de impacto diminuto na característica, uma vez que

puderam ser discriminados apenas sob maior intensidade de doença. Esta hipótese é reforçada quando se observa os valores de grau médio de dominância (*gmd*) para cercosporiose (Quadro 9), que caracterizaram, em média, uma dominância parcial fraca para os locus controlados por genes de efeitos não-aditivos.

Nas análises dialélicas individuais, com base nas porcentagens associadas aos quadrados médios de CGC e CEC, é possível notar a predominância maciça dos efeitos gênicos aditivos para a expressão dos índices de severidade de helmintosporiose e cercosporiose (Quadro 9). Estes resultados estão em consonância com diversos estudos realizados para helmintosporiose, (Sigulas et al., 1988; Welz e Geiger, 2000; Takamiya e Shigeyuki, 2000) e cercosporiose (Manh, 1977; Huff et al. 1988, Elwinger et al., 1990; Thompson et al., 1990; Ulrich et al., 1990; Donahue et al., 1991; Gevers et al., 1994; Coates e White, 1998; Verma, 2001; Vanegas-Angaritas et al., 2007; Derera et al., 2008), os quais também determinaram a predominância dos efeitos aditivos.

No contexto de predominância de efeitos aditivos, a média dos genitores para a característica em estudo é um bom preditor da combinação híbrida (Scapim et al., 2002). De fato, isso demonstra que uma boa avaliação *per se* das linhagens para tais caracteres é muito importante para os programas de melhoramento. Tais informações são muito válidas na escolha de genitores visando à obtenção de um nível aceitável de resistência à doenças em híbridos e variedades, no sentido poder prever o comportamento dos mesmos.

Para mensurar as possibilidades de melhoramento, as estimativas de componentes de variância de CGC e CEC são medidas mais adequadas do que as porcentagens associadas às somas de quadrados ou quadrados médios, vez que são indicadores de qual tipo de efeito gênico possui maiores possibilidades de seleção, o que por sua vez norteia qual método de melhoramento deve ser adotado. Nesse contexto, a predominância dos efeitos aditivos em relação aos não-aditivos, na média dos dois ambientes, esteve próxima da relação 4:1 para resistência à helmintosporiose (5,6:1 na safra; 2,6:1 na safrinha) e indica que os métodos intrapopulacionais de melhoramento, baseados na exploração dos efeitos gênicos aditivos por seleção recorrente, serão mais efetivos na capitalização dos alelos favoráveis a esta característica. Para cercosporiose, a relação entre os efeitos aditivos e não-aditivos foi em média de 5:1 (8:1 na safra;

2:1 na safrinha - sob condições mais severas de infestação); indicando que a combinação de métodos intrapopulacionais e interpopulacionais, tal como seleção recorrente recíproca, *a priori*, é uma boa opção e que a seleção sob condições de maior infestação pode facilitar a identificação de genótipos que detenham genes de efeitos não-aditivos.

A indicação de métodos de seleção recorrente para aumentar os níveis de resistência à helmintosporiose ao encontro das conclusões feitas por Bleicher e Balmer (1993), que obtiveram bons resultados para o aumento da resistência à doença em três ciclos de seleção recorrente fenotípica, com ganhos genéticos de até -20% por ciclo.

As análises dialélicas conjuntas indicaram a existência de diferenças significativas ($p < 0,10$) para os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) das linhagens, de capacidade específica (CEC) e da interação capacidade geral de combinação-ambiente para as duas doenças (Quadro 10). Com isso, conclui-se que os efeitos de CGC (\hat{g}_i) devem ser considerados para cada ambiente; ao passo que os efeitos de CEC (\hat{s}_{ij}) podem ser estudados na média dos dois ambientes. Ainda sim, novamente, com bases nas porcentagens de quadrados médios associados à CGC e CEC, os genes de efeitos aditivos foram predominantes no condicionamento da resistência às doenças estudadas (Quadro 10), reforçando as conclusões já feitas por meio das análises individuais.

Conforme observado nas análises dialélicas individuais, a predominância dos efeitos de capacidade geral de combinação (predominantemente aditivos) para helmintosporiose e cercosporiose nas análises dialélicas conjuntas confirma que a exploração de gerações segregantes destas linhagens por métodos intrapopulacionais é viável.

As estimativas de efeitos de capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) são apresentadas no Quadro 11. Foram considerados relevantes os valores de \hat{g}_i que, nos dois ambientes, superaram em 2 vezes, ou mais, seus respectivos desvios-padrão. Nesse sentido, e considerando que os valores de \hat{g}_i negativos são desejáveis, pois tais genitores contribuem para baixar a média geral do dialelo; as linhagens 8 (P₈) e 9 (P₉) são as que mais contribuem para resistência à helmintosporiose em seus híbridos; ao passo que as linhagens 2 (P₃) e 4 (P_{4.3})

são as mais indicadas para contribuições na resistência à cercosporiose. De maneira oposta, com os \hat{g}_i positivos relevantes, as linhagens 1 (P₁) e 7 (P_{7.4}) são as mais susceptíveis à helmintosporiose; e as linhagens 6 (P₇) e 9 (P₉) as mais susceptíveis à cercosporiose.

Quadro 10 - Análise dialélica conjunta (ambientes: safra e safrinha) para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Fonte de variação	gl	Quadrados médios	
		helmintosporiose	cercosporiose
Genótipos	35	4,5744*	0,9979*
CGC	8	16,8936*	3,4731*
CEC	27	0,9241*	0,2645*
Ambiente (Amb)	1	2,4491*	2,4300*
Genótipos <i>versus</i> Amb	35	0,6979*	0,3686*
CGC <i>versus</i> Amb	8	1,8157*	1,1509*
CEC <i>versus</i> Amb	27	0,3667 ^{ns}	0,1368 ^{ns}
Resíduo combinado	110	0,3364	0,1126
%SQG		95	93
%SQS		5	7

* p < 0,10 pelo teste F. ^{ns} p > 0,10 pelo teste F.

As estimativas dos efeitos da interação capacidade geral de combinação-ambiente ($\hat{g}a_{ik}$) são apresentadas também no Quadro 11. Estas estimativas consistem da diferença entre as estimativas de \hat{g}_i para cada ambiente e o de \hat{g}_i médio nos dois ambientes. Com base nos valores de $\hat{g}a_{ik}$ pode-se concluir que as linhagens 8 (P₈) e 9 (P₉) – parcialmente resistentes à helmintosporiose – e as linhagens 2 (P₃) e 4 (P_{4.3}) – parcialmente resistentes à cercosporiose – apresentaram baixos valores de interação capacidade geral de combinação-ambientes. Isso permite concluir que os efeitos da interação genótipo-ambiente (neste caso esmiuçadas para a interação CGC-ambientes) não constituem um problema grave para a identificação de genitores resistentes à cercosporiose e à helmintosporiose. As linhagens mais promissoras para cada doença puderam ser identificadas em ambos os ambientes.

Quadro 11 - Estimativas de efeitos da capacidade geral de combinação¹ (\hat{g}_i) e efeitos da interação capacidade geral de combinação-ambientes ($\hat{g}a_{ik}$) para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) e cercosporiose (*Cercospora* spp.), em nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Linhagens	helmintosporiose					cercosporiose				
	safra		safrinha		\hat{g}_i médio	safra		safrinha		\hat{g}_i médio
	\hat{g}_i	$\hat{g}a_{ik}$	\hat{g}_i	$\hat{g}a_{ik}$		\hat{g}_i	$\hat{g}a_{ik}$	\hat{g}_i	$\hat{g}a_{ik}$	
1 (P ₁)	1,2773	0,4124	0,4526	-0,4124	0,8650	-0,2791	-0,0681	-0,1429	0,0681	-0,2110
2 (P ₃)	-0,0117	-0,0854	0,1590	0,0854	0,0737	-0,2287	0,0900	-0,4086	-0,0900	-0,3187
3 (P ₄)	0,0475	-0,2218	0,4910	0,2218	0,2693	0,0490	0,1736	-0,2981	-0,1736	-0,1246
4 (P _{4,3})	-0,1336	-0,1660	0,1983	0,1660	0,0324	-0,2390	0,0636	-0,3662	-0,0636	-0,3026
5 (P ₅)	-0,2771	-0,2021	0,1270	0,2021	-0,0751	0,5580	0,2345	0,0890	-0,2345	0,3235
6 (P ₇)	0,0801	0,1009	-0,1216	-0,1009	-0,0208	0,3675	0,0436	0,2804	-0,0436	0,3240
7 (P _{7,4})	0,9363	0,1787	0,5790	-0,1787	0,7577	0,1024	-0,0605	0,2233	0,0605	0,1629
8 (P ₈)	-0,9193	0,0578	-1,0348	-0,0578	-0,9771	-0,4751	-0,2644	0,0537	0,2644	-0,2107
9 (P ₉)	-0,9996	-0,0745	-0,8507	0,0745	-0,9252	0,1521	-0,2087	0,5695	0,2087	0,3608
DP ² \hat{g}_i	0,1042		0,1328		0,1185	0,0724		0,0655		0,0689
DP ² $\hat{g}_i - \hat{g}_j$	0,1563		0,1991		0,1777	0,1086		0,0982		0,1034

¹ Em negrito, estimativas relevantes considerando os respectivos valores de desvio-padrão. ² DP: desvio-padrão.

Neste conjunto de linhagens-elite de milho-pipoca, uma dificuldade para o melhoramento é o fato de não haver uma linhagem que agregue, concomitantemente, contribuições para resistência às duas doenças. Linhagens favoráveis para resistência a helmintosporiose, tais como as linhagens 8 e 9, estão dentre as susceptíveis à cercosporiose (\hat{g}_i 's positivos) ou estão na média do dialelo (\hat{g}_i 's próximos de zero). De modo semelhante, as linhagens 6 e 9, favoráveis para resistência à cercosporiose, não o são para helmintosporiose.

As estimativas de CGC (\hat{g}_i) proporcionam informações acerca da concentração de genes predominantemente aditivos em seus efeitos e têm sido de grande utilidade na indicação de genitores a serem utilizados em programas de melhoramento intrapopulacional (Cruz e Regazzi, 1993). De acordo com os

valores de *gmd* foram observadas dominâncias parciais para os locus gênicos sob efeitos de genes não-aditivos que controlam a resistência de ambas as doenças. Isso possibilitaria selecionar sem maiores problemas devidos à dominância em gerações segregantes provenientes destas linhagens. Assim, a formação de compostos envolvendo as linhagens 2 (P₃), 4 (P_{4.3}), 8 (P₈) e 9 (P₉) pode ser viável para exploração por métodos intrapopulacionais de melhoramento.

Uma vez que os efeitos da interação capacidade específica-ambiente não foram significativos a 10% de probabilidade pelo teste F (Quadro 10), foram utilizados os efeitos de capacidade específica de combinação (\hat{S}_{ij}) médios entre os dois ambientes (Quadro 12). Foram considerados relevantes os efeitos \hat{S}_{ij} negativos que superam em, no mínimo, 1,5 vezes a magnitude de seus respectivos desvios-padrão.

Duas combinações híbridas (2 × 3 e 7 × 9) apresentaram estimativas de CEC (\hat{S}_{ij}) relevantes para a severidade de helmintosporiose. Isso indica que estes híbridos apresentaram comportamento diferenciado em relação ao esperado pela CGC de suas linhagens genitoras. Assim, conclui-se que, os desvios dos efeitos esperados conforme a aditividade, associados então a dominância e, ou epistasia, têm importância para a expressão da severidade de helmintosporiose em tais híbridos. Para cercosporiose, foi detectada \hat{S}_{ij} relevante apenas para o híbrido 5 × 8. Examinando os \hat{S}_{ij} das combinações híbridas com contribuição das linhagens 5 e 8, não é possível detectar um padrão de estimativas negativas. Frente a isso, duas hipóteses podem ser levantadas para tais efeitos não-aditivos de resistência à cercosporiose. Uma primeira, que contempla a presença de genes de dominância parcial e efeito diminuto – o que está em consonância com os valores de *gmd* estimados para ambas as doenças – incapaz inclusive de fazer com que as médias ajustadas das combinações híbridas com contribuição gamética destas linhagens estivessem entre as menores (Quadro 7); e uma segunda, que pressuporia a existência de efeitos epistáticos de alguma natureza. A detecção de genes dominantes de pequeno efeito para resistência à cercosporiose é concordante com demais trabalhos da literatura (Verma, 2001; Menkir e Ayodele, 2005).

Quadro 12 - Estimativas médias de efeitos da capacidade específica de combinação¹ (\hat{S}_{ij}) para severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*; acima da diagonal) e cercosporiose (*Cercospora* spp.; abaixo da diagonal), em híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos de nove linhagens endogâmicas de milho-pipoca

Linhagens	Linhagens								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0,568	0,383	-0,086	-0,454	-0,433	0,592	-0,328	-0,243
2	0,092		-0,614	-0,101	-0,157	0,009	0,545	-0,317	0,068
3	-0,024	0,036		-0,279	0,234	0,055	0,539	-0,056	-0,261
4	-0,118	0,014	0,230		0,295	0,108	-0,059	-0,186	0,307
5	0,124	0,064	0,189	0,158		0,073	-0,467	0,322	0,153
6	-0,175	0,06	-0,011	-0,200	-0,185		-0,457	0,361	0,284
7	-0,353	-0,066	-0,119	0,010	0,001	0,098		-0,09	-0,603
8	0,411	-0,129	0,002	0,107	-0,386	0,020	0,150		0,294
9	0,043	-0,071	-0,302	-0,201	0,034	0,393	0,279	-0,175	

¹ Em negrito, estimativas relevantes. ² Desvio-padrão médio \hat{S}_{ij} : 0,288; desvio-padrão médio $\hat{S}_{ij} - \hat{S}_{ik}$: 0,435; desvio-padrão médio $\hat{S}_{ij} - \hat{S}_{kl}$: 0,397. ³ Desvio-padrão médio \hat{S}_{ij} : 0,168; desvio-padrão médio $\hat{S}_{ij} - \hat{S}_{ik}$: 0,253; desvio-padrão médio $\hat{S}_{ij} - \hat{S}_{kl}$: 0,231. ¹ P₁: 1; P₃: 2; P₄: 3; P_{4,3}: 4; P₅: 5; P₇: 6; P_{7,4}: 7; P₈: 8; P₉: 9.

O fato do grau de dominância para severidade de cercosporiose caracterizar dominância parcial denota que esta em pouco se destaca dos efeitos aditivos. Neste contexto, cruzamentos com estas linhagens para capitalização destes efeitos de dominância são pouco viáveis, haja vista seu pequeno efeito. Assim, uma possibilidade inicial de aplicação de métodos interpopulacionais de seleção recorrente recíproca para cercosporiose está descartada, focando em seleção por métodos intrapopulacionais; agora então, para ambas as doenças. A não exploração destas combinações híbridas acima mencionadas por meio de métodos interpopulacionais é também concordante com as premissas de Cruz e Regazzi (1993), que preconizam a utilização de combinações híbridas com, ao menos, um genitor com CGC dentre as mais favoráveis.

Predição de compostos para a resistência conjunta

Em geral, em maior ou menor intensidade, as doenças foliares do milho ocorrem conjuntamente. Nesse contexto, dentro das perspectivas do melhoramento de milho, é desejável que as linhagens detenham resistência a mais de uma doença; sejam elas as principais na área de abrangência do

programa ou o maior número possível, podendo então contribuir com estas características em seus híbridos.

Frente a não existência de uma linhagem ideal, que agregasse concomitantemente, contribuições para resistência a helmintosporiose e cercosporiose e das melhores possibilidades de melhoramento utilizando os efeitos aditivos deste conjunto de linhagens, foram preditas as severidades de helmintosporiose e cercosporiose em todos os possíveis compostos (biparentais, triparentais e quádruplos), utilizando as linhagens 8 (P_8) e 9 (P_9) – contribuições para resistência à helmintosporiose – e as linhagens 2 (P_3) e 4 ($P_{4,3}$) – contribuições para resistência à cercosporiose. O intuito deste procedimento foi determinar quais os compostos mais promissores para obtenção de linhagens visando à resistência conjunta às duas doenças, explorando os mesmos inicialmente para seleção por meio de métodos intrapopulacionais. Para determinar quais os compostos mais promissores para os objetivos já mencionados, foram consideradas as médias de severidade das doenças no dialelo.

Dentre os seis compostos do tipo $a \times b$ possíveis utilizando as linhagens supracitadas, o composto 2×8 apresentou as menores médias de severidade de helmintosporiose e cercosporiose, mantendo tal comportamento em safra e safrinha (Quadro 13). Este composto também obteve as menores médias dentre os compostos preditos, incluindo-se também os compostos dos demais tipos. Desta forma, mesmo sendo um composto de base estreita (vindo da recombinação de apenas duas linhagens), o composto 2×8 pode ser considerado uma boa opção, uma vez que possibilita agregar bons níveis de resistência a ambas doenças e é proveniente de linhagens-elite, bastante melhoradas. Em suma, o referido composto poderá prover novas linhagens-elite de milho-pipoca que agreguem boas características agrônômicas e níveis satisfatórios de resistência à helmintosporiose e à cercosporiose.

Muito embora o composto 2×8 tenha se destacado dentre todos os compostos, algumas outras combinações, relevantes no intuito de ampliar a base genética do composto a ser formado, devem ser consideradas. Os compostos $2 \times 4 \times 8$ e $(2 \times 4) \times 8$ tiveram médias preditas destacadas e comportamento semelhante nos dois ambientes, favoráveis à resistência tomando por base as médias gerais do dialelo (Quadro 13). É notório que estes dois compostos são

formados pelas mesmas três linhagens, entretanto, o composto 2 × 4 × 8 apresentará uma base genética mais ampla, pois apresenta contribuição idêntica das três linhagens (33%); algo que não acontece para o composto (2 × 4) × 8 (50% da linhagem 8 e 25% das demais).

Quadro 13 - Predições para os compostos possíveis entre as linhagens promissoras (P₈ e P₉, para helmintosporiose; P₂ e P_{4,3}, para cercosporiose), com base nas médias, na safra e na safrinha, dos híbridos originados de cruzamentos dialélicos completos¹.

Compostos	Estimativas ²				sp-md ³	
	helmintosporiose (h)		cercosporiose (c)		h	c
	safra	safrinha	safra	safrinha		
<i>Tipo a x b</i>						
2, 4	1,6116	1,5902	0,5492	0,5034	-1,5963	-1,2528
2, 8	1,2578	0,7193	0,4267	0,5750	-2,2087	-1,7495
2, 9	1,1433	1,2705	0,6826	0,9483	-1,9903	-1,3459
4, 8	1,0879	0,9784	0,3989	0,8590	-2,1641	-1,6338
4, 9	1,3733	1,2387	0,5975	0,9200	-1,8912	-1,4044
8, 9	0,8568	0,7323	0,4440	1,1917	-2,4027	-1,7343
<i>Tipo a x b x c</i>						
2, 4, 8	1,7588	1,4613	0,6110	0,8593	-1,5872	-1,2863
2, 4, 9	1,8348	1,8220	0,8130	1,0541	-1,3688	-1,0050
2, 8, 9	1,4480	1,2099	0,6903	1,2067	-1,8683	-1,3724
4, 8, 9	1,4746	1,3109	0,6401	1,3185	-1,8045	-1,3470
<i>Tipo (a x b) x c</i>						
(2 x 4) x 8	1,5757	1,2465	0,5501	0,8408	-1,7861	-1,4242
(2 x 4) x 9	1,6612	1,6522	0,7773	1,0600	-1,5405	-1,1077
(2 x 8) x 4	1,6642	1,4642	0,5807	0,8229	-1,6330	-1,3000
(2 x 8) x 9	1,3145	1,1813	0,6700	1,2138	-1,9493	-1,3968
(4 x 8) x 2	1,7066	1,3994	0,5877	0,7529	-1,6442	-1,3289
(4 x 8) x 9	1,3870	1,2301	0,6205	1,2696	-1,8887	-1,3972
Quadro 13 Cont...						
(4 x 9) x 2	1,7208	1,7401	0,7652	0,9559	-1,4668	-1,0698
(4 x 9) x 8	1,3156	1,1650	0,5708	1,2533	-1,9569	-1,4546
(8 x 9) x 2	1,4148	1,1780	0,6656	1,0596	-1,9008	-1,4007
(8 x 9) x 4	1,4448	1,2916	0,6092	1,1854	-1,8290	-1,3721
<i>Tipo a x b x c x d</i>						
2 x 4 x 8 x 9	1,8327	1,6324	0,7947	1,2483	-1,4647	-1,1089
<i>Média do dialelo</i>	3,3037	3,0907	1,5542	1,7663		

¹ P₂: 2; P_{4,3}: 4; P₈: 8; P₉: 9. ² Severidades, porém na escala raiz de x dos dados utilizados para as análises. ³ Somatório das severidades preditas (valores transformados) menos respectivas médias do dialelo / 2.

No contexto todo, considerando as médias preditas e a variabilidade esperada para os compostos de cada tipo, optar-se-á pela recombinação das linhagens 2, 4 e 8, na forma do composto denominado 2 x 4 x 8.

4.2. Análise de um dialelo parcial circulante para resistência à ferrugem polissora

As médias estimadas dos híbridos provenientes do dialelo variaram entre 1,4 ($P_{9.20} \times P_{8.2}$) e 4,8% ($P_{9.20} \times P_{8.6}$) para a severidade aos 80 dias após a semeadura (d.a.s.), entre 10,4 ($P_{9.24} \times P_{8.5}$) e 24,4% ($P_{9.20} \times P_{8.6}$) para a severidade aos 92 d.a.s. e entre 57,9 ($P_{9.22} \times P_{8.2}$) e 191,4 ($P_{9.20} \times P_{8.6}$) para a AACPD (Quadro 14). Estas médias divergentes evidenciam a possibilidade de melhoramento para resistência à ferrugem polissora neste conjunto de linhagens. Porém, se comparado com os tratamentos-testemunha de reação conhecida, tais médias indicam que os melhores híbridos detiveram intensidades de ferrugem polissora intermediárias entre as cultivares medianamente susceptíveis (IAC 112 e BRS-Angela) e a cultivar susceptível Jade. Em suma, estas considerações denotam a importância do melhoramento visando resistência à ferrugem polissora e as dificuldades inerentes a este germoplasma.

As médias estimadas para as combinações híbridas de cada linhagem permitem destacar, *a priori*, as linhagens $P_{8.5}$ e $P_{8.2}$, do grupo 2-Zaeli, e a linhagem $P_{9.22}$ do grupo 1-IAC 112, para resistência à ferrugem polissora (Quadro 14). Porém, a linhagem $P_{9.22}$ esteve combinada com as duas linhagens destacada do grupo 2-Zaeli, explicando o comportamento favorável de suas combinações híbridas e descartando $P_{9.22}$ como genitora favorável à resistência. De fato, isso se confirmou com a ausência de diferenças significativas entre as linhagens do grupo 1-IAC 112 e suas irrelevantes estimadas de capacidade geral de combinação (Quadros 16 e 18, subseqüentes neste trabalho).

As análises de variância realizadas indicaram a existência de diferenças significativas ($p < 0,10$) para o efeito de híbridos quanto à área abaixo da curva de progresso de ferrugem polissora (AACPD), que englobou todas as avaliações realizadas (Quadro 15). Isso indica que um ou mais híbridos se destacam dos demais quanto à capacidade de frear a doença, reduzindo sua evolução no decorrer do ciclo da cultura, acompanhado por meio das seguidas avaliações.

Para o melhoramento, esta é uma condição favorável, pois sinaliza com a possibilidade de seleção entre as linhagens genitoras destes híbridos. Considerando as severidades aos 80 e 92 d.a.s., não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes em nível de 10% de probabilidade.

Quadro 14 - Médias de severidades aos 80 e 92 dias após a semeadura (d.a.s.) e a área abaixo da curva de progresso (AACPD) da severidade de ferrugem polissora (*P. polysora*) nos híbridos e médias das combinações híbridas das linhagens

Linhagens	Grupo Zaeli					Média ²
	1 (P _{8.5})	2 (P _{8.2})	3 (P _{8.4})	4 (P _{8.1})	5 (P _{8.6})	
<i>Grupo IAC 112</i>						
	2,0 ^a	1,9	2,2			2,0
1' (P _{9.22})	10,7 ^b	15,4	12,2			12,8
	83,5 ^c	57,9	93,8			78,4
2' (P _{9.27})		1,9	2,4	3,6		2,6
		10,8	19,3	19,2		16,4
3' (P _{9.1})		83,1	139,0	150,0		124,0
			2,2	2,0	3,9	2,7
4' (P _{9.24})			13,1	22,2	19,0	18,1
			99,1	151,9	151,2	134,1
5' (P _{9.20})	2,4			2,0	2,7	2,4
	10,4			21,0	19,9	17,1
Média ¹	85,5			144,7	145,1	125,1
	1,8	1,4			4,8	2,7
Média ¹	11,9	17,4			24,2	17,8
	88,7	86,0			191,4	122,0
<i>Médias dos híbridos comerciais (tratamentos-testemunha)</i>						
	IAC 112 (MS)		BRS-Ângela (MS)		Jade (S)	
	0,6		0,7		1,9	
	6,2		8,9		17,0	
	43,0		60,3		120,2	

¹Média das linhagens do grupo IAC 112. ²Média das linhagens do grupo Zaeli. ^{a, b} Severidade aos 80 e 92 d.a.s., respectivamente. ^c AACPD. MS: medianamente susceptível. S: susceptível.

Mesmo não sendo constatadas diferenças estatisticamente significantes para as severidades aos 80 e 92 d.a.s., as maiores estimativas de componente de variância genética ($\hat{\sigma}_g^2$) e de herdabilidade no sentido amplo aos 92 d.a.s. sugerem que, em condições de infestação mais severa de ferrugem polissora, há condições mais favoráveis à discriminação da resistência nos genótipos, se

comparado com infestações mais baixas – 80 d.a.s. (Quadro 15). Porém, em virtude das baixas e medianas estimativas de herdabilidade no sentido amplo e de relações CVg/Cve bastante inferiores a 1 para as três variáveis estudadas, constatou-se que as variações devidas a causas não controladas são determinantes na constituição do fenótipo dos híbridos, dificultando os processos de seleção.

Quadro 15 - Análise de variância para as severidades aos 80 e 92 dias após a semeadura (d.a.s.) e a área abaixo da curva de progresso da severidade de ferrugem polissora (AACPD)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio		
		Severidade aos 80 d.a.s	Severidade aos 92 d.a.s	AACPD
Híbridos	14	2,6637 ^{ns}	64,2922 ^{ns}	4.374,3461*
Blocos	2	7,9687*	784,6836*	22.343,1042*
Resíduo	28	1,7158	38,6747	2.249,3161
Média		2,5	16,5	116,7
Cve (%)		53	38	41
$\hat{\sigma}_g^2$		0,3160	8,5392	708,3433
CVg		22	18	23
CVg/Cve		0,42	0,47	0,56
\hat{h}^2 sentido amplo		0,36	0,40	0,49

* p < 0,10 pelo teste F. ^{ns} p > 0,10 pelo teste F.

As análises dialélicas indicaram a significância da capacidade geral de combinação (CGC) das linhagens do grupo 2-Zaeli para todas as variáveis estudadas, em nível de 10% de probabilidade (Quadro 16). Isso revela a importância de genes de efeitos aditivos e que os alelos de uma ou mais linhagens deste grupo faz com que elas se destaquem das demais quanto à resistência à polissora. Muito embora neste trabalho não foram detectados efeitos de heterose, devidos a genes de efeitos não-aditivos (capacidade específica de combinação), outros trabalhos detectaram tais efeitos utilizando linhagens e variedades de polinização aberta de milho comum (Paterniani et al., 2000; Rodrigues et al., 2006; Silva et al., 2001).

As porcentagens associadas às somas de quadrados das capacidades gerais de combinação dos grupos 1 e 2 e da capacidade específica de

combinação indicam que a variabilidade genética aditiva, advinda de locus sob efeitos gênicos aditivos, é predominante e comparativamente maior do que a variabilidade não-aditiva, expressa pela capacidade específica. Isso sugere que a exploração de gerações segregantes, vindas de genitores deste conjunto de linhagens que sejam favoráveis para a resistência à polissora, deve ser feita por meio de métodos intrapopulacionais de seleção recorrente, de modo que o acúmulo dos alelos aditivos favoráveis ocorra nos seguidos ciclos de melhoramento.

Quadro 16 - Análise dialélica parcial circulante para as severidades aos 80 e 92 dias após a semeadura (d.a.s.) e a área abaixo da curva de progresso da severidade de ferrugem polissora (AACPD) nos genótipos estudados

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio		
		Severidade aos 80 d.a.s	Severidade aos 92 d.a.s	AACPD
Híbridos	14	2,6637 ^{ns}	64,2922 ^{ns}	4.374,3461*
CGC grupo1-IAC 112	4	0,1697 ^{ns}	8,6932 ^{ns}	950,4015 ^{ns}
CGC grupo 2-Zaeli	4	6,7569*	180,5512*	13.536,9220*
CEC	6	1,3143 ^{ns}	24,5857 ^{ns}	556,2090 ^{ns}
Resíduo	28	1,7158	38,6747	2.249,3161
% <i>SQG</i> grupo1-IAC 112		2	4	6
% <i>SQG</i> grupo 2-Zaeli		76	80	88
% <i>SQS</i>		22	16	5

CGC: capacidade geral de combinação. CEC: capacidade específica de combinação. * $p < 0,10$ pelo teste F. ^{ns} $p > 0,10$ pelo teste F.

As estimativas de efeitos de capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) para as linhagens do grupo 2-Zaeli são apresentadas no Quadro 17. Foram considerados relevantes os valores de \hat{g}_i que superaram os seus respectivos desvios-padrão. Nesse sentido, e considerando que os valores de \hat{g}_i negativos são desejáveis, pois tais genitores contribuem para baixar a média geral do dialelo, as linhagens $P_{8.5}$ e $P_{8.2}$ são as mais favoráveis para resistência à ferrugem polissora, contribuindo no sentido da resistência em seus híbridos. De maneira oposta, com \hat{g}_i positivo relevante, a linhagem $P_{8.6}$ é a mais susceptível à ferrugem polissora dentre aquelas do grupo 2-Zaeli. Assim, as linhagens $P_{8.5}$ e $P_{8.2}$ são recomendadas para integrar populações-base para exploração por

métodos intrapopulacionais de seleção recorrente visando resistência à ferrugem polissora.

Quadro 17 - Estimativas de capacidade geral de combinação (\hat{g}_j) das linhagens do grupo 2 (Zaeli) para resistência à ferrugem polissora (*P. polysora*)

Linhagens	Severidade aos 80 d.a.s		Severidade aos 92 d.a.s		AACPD	
	\hat{g}_j	$\hat{Y}_{.j} - \hat{Y}_{..}$	\hat{g}_j	$\hat{Y}_{.j} - \hat{Y}_{..}$	\hat{g}_j	$\hat{Y}_{.j} - \hat{Y}_{..}$
1 (P _{8.5})	-0,29	-0,41	-6,05	-5,45	-29,11	-30,83
2 (P _{8.2})	-1,01	-0,75	-2,45	-1,91	-46,48	-41,06
3 (P _{8.4})	-0,37	-0,21	-0,78	-1,58	-3,87	-6,09
4 (P _{8.1})	0,13	0,05	5,10	4,35	33,22	32,14
5 (P _{8.6})	1,55	1,32	4,18	4,59	46,23	45,84
Desvio-padrão \hat{g}_j	0,96		4,66		39,57	

Quadro 18 - Estimativas de capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) das linhagens do grupo 1 (IAC 112) para resistência à ferrugem polissora (*P. polysora*)

Linhagens	Severidade aos 80 d.a.s		Severidade aos 92 d.a.s		AACPD	
	\hat{g}_i	$\hat{Y}_{.i} - \hat{Y}_{..}$	\hat{g}_i	$\hat{Y}_{.i} - \hat{Y}_{..}$	\hat{g}_i	$\hat{Y}_{.i} - \hat{Y}_{..}$
1' (P _{9.22})	0,11	-0,45	-0,59	-3,68	-11,84	-38,33
2' (P _{9.27})	0,57	0,15	-0,64	-0,01	13,01	7,31
3' (P _{9.1})	-0,21	0,22	-1,18	1,65	-7,86	17,34
4' (P _{9.24})	-0,57	-0,11	-0,42	0,65	-8,41	8,37
5' (P _{9.20})	0,11	0,19	2,83	1,39	15,09	5,31
Desvio-padrão \hat{g}_i	0,43		1,61		12,94	

4.3. Uma nova escala diagramática para avaliar a severidade de helmintosporiose do milho

A nova escala diagramática teve 0,5% como nível mínimo de severidade, representado as pequenas lesões que ocorrem em estágios iniciais de infecção da doença. O nível máximo encontrado em condições de campo, determinado em 96,0%, ocorre quando as lesões coalescem e então as folhas secam. Os níveis intermediários, entre os índices mínimo (0,5%) e máximo (96,0%) de severidade, foram 1,6%; 5,0%; 15,0%; 37,0%; 66,0%; e 87,0% (Figura 1). As deformações

freqüentemente encontradas em folhas contendo lesões coalescidas também foram representadas nos níveis de severidade da nova escala.

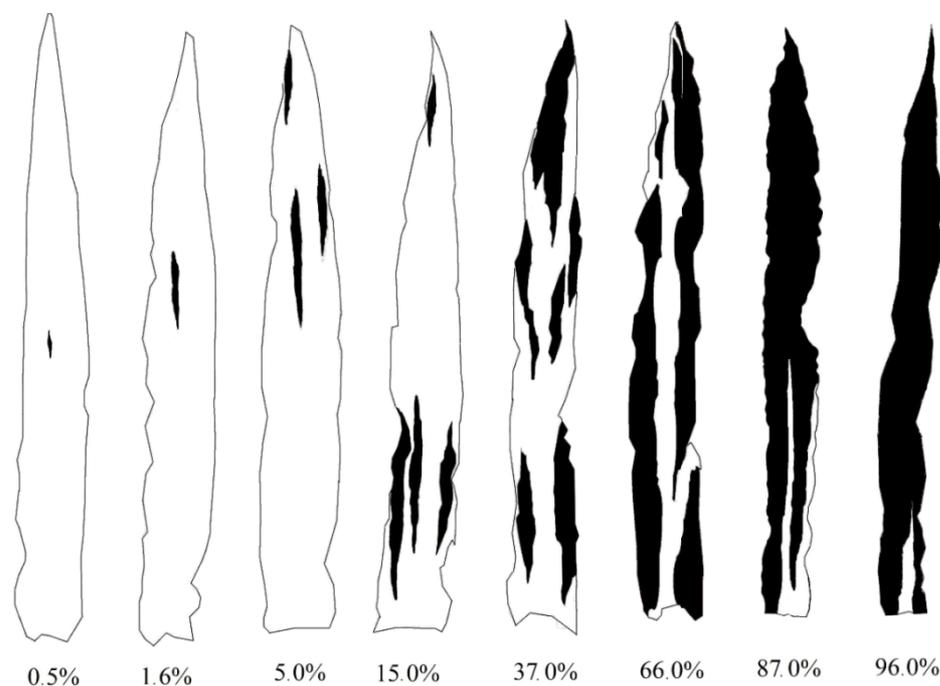


Figura 1 - Nova escala diagramática para avaliação da severidade de helmintosporiose (*E. turcicum*) em folhas de milho.

Em muitos patossistemas, por exemplo, alface-*Cercospora longissima* (Gomes et al., 2004), soja-*Septoria glycines* e soja-*Cercospora kikuchii* (Martins et al., 2004) e soja-*Phakopsora pachyrhizi* (Godoy et al., 2006), níveis máximos de severidade próximos de 90% não têm sido encontrados sob condições de campo. Isso se explica pela senescência e queda das folhas severamente infectadas. Em escalas desenvolvidas para doenças de milho, por exemplo, cercosporiose (*Cercospora zea-maydis*; Smith, 1989) e mancha de Kabatiella (*Kabatiella zea*; Camochena et al., 2008), os níveis máximos de severidade estiveram próximos de 50%. Em resumo, os fatos supracitados indicam que algo diferente ocorre para a helmintosporiose, promovendo um nível máximo de 96%. Em nosso entendimento, o formato específico das lesões de helmintosporiose, elípticas e maiores em dimensão do que as lesões de outras doenças do milho (por exemplo, cercosporiose, mancha de Kabatiella e helmintosporiose maidis), é responsável pelos altos níveis de severidade. Sob condições severas de infecção, a seca das folhas seguindo o formato das lesões faz com que elas continuem

presas no colmo das plantas. Níveis máximos semelhantes (92,0%) foram encontrados por Barguil et al. (2008), trabalhando com antracnose (*Colletotrichum gloesporioides*) em brácteas de bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*); e Kohata et al. (2008) no patossistema soja-*Peronospora manshurica* (87,65%).

Os mais altos valores de coeficientes R^2 foram verificados em avaliações usando a nova escala, indicando que esta metodologia possibilitou maior precisão dentre as testadas (Quadro 19). Em geral, os avaliadores experientes foram mais precisos que avaliadores inexperientes. Ademais, os menores valores de quadrado médio dos resíduos (QMR) foram obtidos em avaliações com a nova escala (QMR médio de 37,39), indicando que desta metodologia proveio também os menores erros. Isso ratifica que a nova escala é o método mais preciso para avaliar a severidade de helmintosporiose. Ainda mais, examinando a diminuição dos QMR obtidos usando a nova escala e não usando escalas, verificou-se que a nova escala pôde auxiliar estimativas tanto de avaliadores inexperientes quanto experientes.

Os resíduos entre as severidades real e estimada foram plotadas para cada metodologia, considerando os avaliadores conjuntamente (Figura 2). Em geral, a magnitude dos resíduos foi de 0,1% a 30,0% de severidade; tendo erros médios absolutos de 4,25% para a nova escala; 4,76% sem utilizar escalas; 4,97% para a escala de Pataký (1992); e 5,43% para a escala de Canteri et al. (1999). Outros autores têm relatado padrões de erros semelhantes em estudos semelhantes (Martins et al., 2004; Angelotti et al., 2008).

No tocante ao estudo da acurácia, em todas as metodologias, as estimativas de β_0 e β_1 foram significantes ($p < 0,05$) para alguns dos avaliadores (Quadro 19). De fato, o número de avaliadores com parâmetros β significantes variou bastante entre as metodologias, indicando que há metodologias mais acuradas e menos acuradas entre as testadas. A avaliação de apenas um avaliador apresentou β_0 significativa utilizando a nova escala. Ao contrário, vários β_0 significantes foram estimados pelos avaliadores quando usando as outras metodologias (4 de 8 avaliadores sem a utilização de escalas; 6 de 8 utilizando a escala de Pataký; e 7 de 8 avaliadores usando a escala de Canteri). Examinando as estimativas de β_1 , as avaliações com a nova escala e não utilizando escalas não tiveram valores significativos (Quadro 19). Em situação oposta, 2 de 8 avaliadores tiveram β_1 significativos usando as escalas de Pataký e Canteri.

Quadro 19 - Resultados sumarizados de acurácia, precisão e reprodutibilidade das avaliações de severidade de helmintosporiose utilizando a nova escala e as demais metodologias.

Critério	Avaliadores ¹								Média	Desvio-padrão
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Sem a utilização de escalas										
R ²	0,96	0,97	0,90	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,9588	0,02
β ₀	-	9,12*	14,17*	3,25*	0,66 ^{ns}	-4,36*	1,13 ^{ns}	1,20 ^{ns}	2,91	6,01
β ₁	1,16 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,94 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,01 ^{ns}	1,01 ^{ns}	1,05 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,02	0,08
QMR	57,99	24,60	100,62	40,41	28,15	39,26	32,34	26,46	43,73	25,38
Nova escala										
R ²	0,96	0,95	0,94	0,97	0,97	0,96	0,98	0,97	0,9625	0,01
β ₀	-	0,34 ^{ns}	8,74*	0,69 ^{ns}	-	-	1,14 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,03	3,32
β ₁	0,98 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,99 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,98	0,04
QMR	43,17	46,35	57,79	28,75	25,28	45,13	26,85	25,77	37,39	12,29
Escala de Canteri et al. (1999)										
R ²	0,92	0,89	0,91	0,97	0,96	0,95	0,98	0,92	0,9375	0,03
β ₀	4,68*	13,64*	16,80*	4,87*	3,55*	-1,48*	0,09 ^{ns}	5,41*	5,95	6,27
β ₁	1,00 ^{ns}	0,76*	0,82 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,06 ^{ns}	1,09 ^{ns}	0,78*	0,92	0,13
QMR	85,62	68,29	70,85	28,69	40,29	55,53	26,19	50,97	53,30	21,04
Escala de Pataky (1992)										
R ²	0,94	0,95	0,77	0,95	0,98	0,95	0,98	0,97	0,9363	0,07
β ₀	3,34*	6,76*	31,29*	4,58*	0,49 ^{ns}	-1,49*	1,75 ^{ns}	6,98*	6,71	10,36
β ₁	1,00 ^{ns}	0,84*	0,70*	0,98 ^{ns}	1,03 ^{ns}	1,07 ^{ns}	1,07 ^{ns}	0,97 ^{ns}	0,96	0,13
QMR	55,86	37,58	149,59	48,08	23,08	58,29	22,30	27,85	52,83	41,57

¹ De 1 a 4: inexperientes em avaliações de doenças; de 5 a 8: experientes. Situações em que a hipótese de nulidade ($H_0: \beta_0 = 0$; $H_0: \beta_1 = 1$) foi rejeitada por meio do teste t, a 5% de probabilidade.
^{ns} Não significativo pelo teste t ($p > 0,05$).

Desta forma, conclui-se, com base na significância a 5% das estimativas dos parâmetros β e em seus valores médios, que a nova escala pode ser considerada a metodologia mais acurada. De acordo com a significância de β_1 , ainda é possível ponderar que alguns avaliadores superestimaram os valores de severidade utilizando as escalas de Canteri e Pataky (Quadro 19). Superestimativas têm sido reportadas para outras escalas e patossistemas (Díaz et al., 2001; Spósito et al., 2004). Examinando as estimativas β_1 , notou-se que a nova escala não superestimou ou subestimou severidade nas avaliações, sendo, portanto, o método mais apropriado.

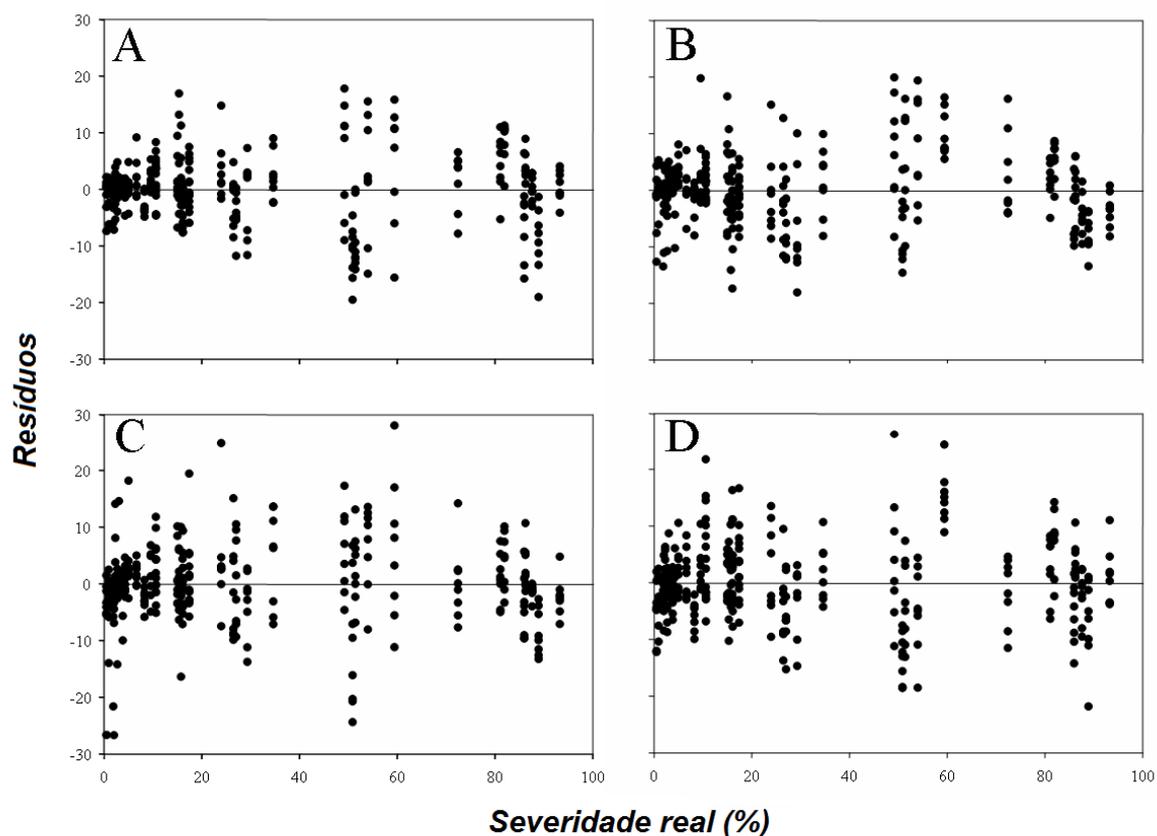


Figura 2 - Resíduos entre as severidades real e estimadas para severidade de helmintosporiose, utilizando a nova escala, proposta neste estudo (A); sem a utilização de escalas (B); utilizando a escala de Pataky (1992) (C); e utilizando a escala de Canteri et al. (1999) (D). Os resíduos de todos os avaliadores foram plotados conjuntamente.

A reprodutibilidade entre avaliadores nas avaliações é um importante critério para julgar a eficiência das escalas diagramáticas (Berger, 1980). Com relação a isso, os avaliadores devem estimar severidades o mais próximo possível da severidade real e o mais próximo possível entre eles. A reprodutibilidade foi avaliada por meio do desvio-padrão das estimativas de cada parâmetro (Quadro 19). Os valores mais baixos de desvios-padrão, ou seja, maior reprodutibilidade entre avaliadores, foram obtidos usando a nova escala. Isso significa que esta metodologia foi a mais efetiva para controlar variações de estimativas entre avaliadores. Ademais, as escalas de Pataky (1992) e Canteri et al. (1999) detiveram valores de desvio-padrão superiores a não utilização de escalas, demonstrando que esses métodos podem induzir os avaliadores a erros sistemáticos por meio de seus diagramas de severidade.

O desempenho destacado da nova escala pode ser atribuído à sua concordância com os pressupostos de construção de escalas. Isso pode ser confirmado se comparando os ótimos resultados da nova escala aos resultados das escalas de Pataky e Canteri et al.; que não seguem tais pressupostos. Na escala de Canteri et al., 37% é o nível máximo de severidade, bastante abaixo dos níveis verificados a campo. Na escala de Pataky, os níveis de severidades intermediários são baseados em aumentos aritméticos, não logarítmicos e isso dificulta decidir entre alguns níveis de severidades, uma vez que suas representações são semelhantes no diagrama. Ademais, não há relatos de validação destas duas escalas por meio de análises estatísticas.

Pesquisas têm reportado a existência de variações na capacidade pessoal de estimação da severidade de doenças, sendo que a qualidade da avaliação é influenciada por estímulos psicológicos, unidade amostral, comprimento, número e forma das lesões, fadiga e dificuldades de concentração (Sherwood et al., 1983; Kranz, 1988). Nesse contexto, a nova escala proposta neste estudo pode auxiliar avaliações da severidade de helmintosporiose em folhas de milho, aumentando precisão, acurácia e reprodutibilidade das estimativas, se comparada às demais metodologias avaliadas. Em resumo, é possível assumir que o uso da nova escala é capaz de promover a obtenção de conjuntos de dados confiáveis para representar os níveis de severidade de helmintosporiose e comparar genótipos de milho quanto à resistência.

4.4. *Screening* inicial de híbridos de milho-pipoca quanto à resistência a doenças

No Quadro 20 são apresentadas algumas estatísticas descritivas das variáveis-resposta avaliadas no experimento. Para helmintosporiose, a estimativa média de severidade final no experimento foi de 2,83%, variando entre valores de 0,00 a 30,33% em nível de parcela. Para cercosporiose, a severidade média final no experimento foi de 7,96%, com valores extremos mínimos e máximos, respectivamente, de 1,17 e 22,92%. É oportuno ressaltar que os índices ocorreram em folhas do terço mediano-superior e, considerando que, em geral, doenças fúngicas progridem de forma ascendente na planta de milho, pode-se concluir que a intensidade da doença foi suficientemente alta para possibilitar uma

discriminação fidedigna dos níveis de resistência. Isso indica haver uma condição favorável para este estudo.

Os valores de qui-quadrado estimados pelo teste de Kruskal-Wallis evidenciaram a presença de diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,10$) entre os postos médios de AACPD helmintosporiose e de AACPD cercosporiose dos genótipos estudados (Quadro 20). Isso demonstra que um ou mais híbridos se destacam dos demais, apresentando maior ou menor nível de resistência às doenças.

Quadro 20 - Estatísticas descritivas do experimento e teste de Kruskal-Wallis para os postos atribuídos à área abaixo da curva de progresso (AACPD) de helmintosporiose e cercosporiose

Fontes de variação	Graus de liberdade	Qui-quadrado	
		Postos de AACPD helmintosporiose	Postos de AACPD cercosporiose
Tratamentos	44	158,63*	250,13*
Média AACPD		51	88
Severidade final (média do experimento, em %)		2,83	7,96
Valores extremos de severidade final (%)		0,00-30,33	1,17-22,92

* $p < 0,10$.

Para helmintosporiose, vinte e nove novos híbridos (01, 02, 03, 04, 09, 10, 11, 16, 17, 23, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 48, 49, 55 e 56) diferiram ($p < 0,10$) de IAC 112, apresentando postos médios inferiores ao mesmo, sendo, cautelosamente, classificados como resistentes, porém com possibilidades de serem classificados como altamente resistentes em experimentos subseqüentes. Treze híbridos (06, 07, 08, 12, 13, 14, 15, 18, 19, 20, 22, 37 e 53) não diferiram estaticamente ($p > 0,10$) do híbrido resistente IAC 112, sendo também considerados resistentes (Quadro 21). Todos os novos híbridos deste estudo apresentaram postos médios estatisticamente inferiores ao híbrido susceptível Zélia, sendo superiores ao mesmo quanto ao caráter resistência à helmintosporiose. Para o híbrido Jade, a existência de diferenças significativas ($p < 0,10$) em relação ao posto médio de IAC 112 e não significância ($p > 0,10$) comparada ao posto médio de Zélia permitiu classificá-lo como susceptível à helmintosporiose.

Para cercosporiose, as testemunhas de nível de resistência conhecido (IAC 112 – medianamente susceptível; e Zélia – susceptível) apresentaram

postos médios quase idênticos e que não diferiram estatisticamente ($p > 0,10$; Quadro 21). Com base nos demais postos do experimento, mais elevados do que os postos destas testemunhas, ambas foram consideradas medianamente susceptíveis à comparação com os novos híbridos. Dentre os novos híbridos, 8 deles (03, 10, 11, 12, 17, 26, 30 e 35) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,10$) em relação às duas testemunhas, sendo considerados medianamente susceptíveis à cercosporiose. Os demais 34 híbridos apresentaram postos estatisticamente superiores ($p < 0,10$) às testemunhas, sendo considerados susceptíveis. Com base na significância das comparações com IAC 112 e Zélia, o híbrido Jade pode ser considerado medianamente susceptível.

Este estudo identificou híbridos de milho-pipoca com níveis de resistência genética à *E. turcicum* superiores e semelhantes ao referencial de resistência em avaliações de genótipos de milho-pipoca, o híbrido IAC 112. De acordo com a literatura, para genótipos de milho comum e milho doce, as maiores intensidades de helmintosporiose estão associadas a danos de rendimento e infecções anteriores ao pendoamento das plantas foram determinantes para prejuízos elevados (Fisher et al., 1976; Issa, 1983; Perkins e Pedersen, 1987; Pataky, 1992). Assim sendo, acredita-se que os novos híbridos considerados resistentes não sofram expressivas reduções de rendimento de grãos devidas à helmintosporiose. Para cercosporiose, alguns híbridos detiveram reação semelhante aos referencias do mercado, sendo, portanto, passíveis de avanço para testes seguintes. De fato, isso também denota a dificuldade de obtenção de genótipos superiores para resistência à cercosporiose, utilizando as populações-base das linhagens destes híbridos.

Com base na soma dos valores de avanço (SVdA), os híbridos que mais se destacaram foram 03, 10, 17, 23, 30 e 35, apresentando valores de avanço 3 ou 2,5 e nenhuma restrição às doenças (resistente à helmintosporiose; medianamente susceptível à cercosporiose). Foi considerada como restrições as situações em que os híbridos não foram resistentes à helmintosporiose e foram susceptíveis à cercosporiose. Deve-se ainda destacar que, o híbrido 12, com valor de avanço de 2, também não possui restrições, uma vez que obteve reação resistente à helmintosporiose e medianamente susceptível à cercosporiose. Os outros híbridos com SVdA igual a 2 podem ser também destacados, mas com restrições para cercosporiose devidas à sua susceptibilidade. São eles os

híbridos: 01, 02, 04, 09, 16, 23, 25, 28, 29, 31, 33, 34, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 49 e 55. No Quadro 22, é apresentado um resumo das considerações feitas com base nas SVdA dos híbridos, utilizadas para definir quais deles poderão ser testados em etapas subseqüentes do programa.

Os 26 novos híbridos presentes no Quadro 22 são os mais indicados, quanto à sanidade foliar, para testes subseqüentes do programa.

Quadro 21 - Médias dos postos e AACPD de helmintosporiose e cercosporiose, com respectivos valores de avanço (VdA) quanto à sanidade foliar

Híbrido	Helmintosporiose				Cercosporiose				Soma dos valores de avanço (SVdA)
	AACPD	Posto	Reação	VdA	AACPD	Posto	Reação	VdA	
01	26	0,4980 ^{††}	R	2	133	0,7840 ^{††}	S	0	2
02	33	0,4764 ^{††}	R	2	134	0,7808 ^{††}	S	0	2
03	0	0,1778 ^{††}	R	2	57	0,2296 ^{ns†}	MS	1	3
04	32	0,4626 ^{††}	R	2	124	0,8156 ^{††}	S	0	2
06	55	0,6001 ^{ns†}	R	1	65	0,4581 ^{††}	S	0	1
07	119	0,8741 ^{ns†}	R	1	68	0,3704 ^{††}	S	0	1
08	56	0,5402 ^{ns†}	R	1	60	0,4359 ^{††}	S	0	1
09	44	0,5668 ^{††}	R	2	95	0,6899 ^{††}	S	0	2
10	56	0,5977 ^{††}	R	2	58	0,3432 ^{ns†}	MS	0,5	2,5
11	15	0,2815 ^{††}	R	2	50	0,1759 ^{ns†}	MS	1	3
12	45	0,5511 ^{ns†}	R	1	66	0,3101 ^{ns†}	MS	1	2
13	37	0,6019 ^{ns†}	R	1	72	0,3945 ^{††}	S	0	1
14	67	0,6631 ^{ns†}	R	1	126	0,8165 ^{††}	S	0	1
15	89	0,6386 ^{ns†}	R	1	82	0,5223 ^{††}	S	0	1
16	25	0,4282 ^{††}	R	2	51	0,3467 ^{††}	S	0	2
17	11	0,3756 ^{††}	R	2	34	0,1776 ^{ns†}	MS	1	3
18	67	0,7130 ^{ns†}	R	1	218	0,7111 ^{††}	S	0	1
19	76	0,6533 ^{ns†}	R	1	76	0,5601 ^{††}	S	0	1
20	32	0,4352 ^{ns†}	R	1	96	0,4908 ^{††}	S	0	1
22	91	0,6963 ^{ns†}	R	1	169	0,8074 ^{††}	S	0	1
23	20	0,3854 ^{††}	R	2	67	0,5424 ^{††}	S	0	2
25	39	0,5351 ^{††}	R	2	139	0,8016 ^{††}	S	0	2
26	13	0,3171 ^{††}	R	2	25	0,1524 ^{ns†}	MS	1	3
28	32	0,4463 ^{††}	R	2	67	0,3204 ^{††}	S	0	2
29	9	0,2952 ^{††}	R	2	92	0,5007 ^{††}	S	0	2
30	13	0,4056 ^{††}	R	2	46	0,2362 ^{ns†}	MS	1	3
31	12	0,2741 ^{††}	R	2	68	0,3370 ^{††}	S	0	2
33	19	0,4088 ^{††}	R	2	80	0,5186 ^{††}	S	0	2
34	16	0,3367 ^{††}	R	2	110	0,6702 ^{††}	S	0	2
35	33	0,5326 ^{††}	R	2	80	0,3678 ^{ns†}	MS	1	3
36	38	0,5646 ^{††}	R	2	108	0,6589 ^{††}	S	0	2
37	48	0,4945 ^{ns†}	R	1	156	0,9118 ^{††}	S	0	1
40	20	0,4247 ^{††}	R	2	130	0,6670 ^{††}	S	0	2
41	49	0,5648 ^{††}	R	2	128	0,6441 ^{††}	S	0	2
42	18	0,3623 ^{††}	R	2	88	0,5749 ^{††}	S	0	2

Quadro 21, Cont.

44	29	0,4294 ^{††}	R	2	131	0,7217 ^{††}	S	0	2
45	15	0,3882 ^{††}	R	2	84	0,5430 ^{††}	S	0	2
46	25	0,4006 ^{††}	R	2	147	0,7621 ^{††}	S	0	2
49	9	0,3224 ^{††}	R	2	69	0,4824 ^{††}	S	0	2
53	86	0,7542 ^{ns†}	R	1	62	0,4419 ^{††}	S	0	1
55	33	0,3689 ^{††}	R	2	76	0,4533 ^{††}	S	0	2
56	26	0,4685 ^{ns†}	R	1	119	0,6185 ^{††}	S	0	1
IAC 112	70	0,7250 [†]	R	1	32	0,1621 ^{nsZ}	MS	1	2
Zélia	276	0,9447 [†]	S	0	30	0,1572 ^{ns†}	MS	1	1
Jade	319	0,9237 ^{†nsZ}	S	0	36	0,2096 ^{ns†}	MS	1	1

(^{††}) resistente à helmintosporiose; medianamente susceptível à cercosporiose. (^{ns†}) susceptível à helmintosporiose e à cercosporiose. [†] Difere significativamente de IAC 112, pelo teste bicaudal de Wilcoxon ($p < 0,10$). [‡] Difere significativamente de Zélia, pelo teste bicaudal de Wilcoxon ($p < 0,10$). ^{ns†} Não difere significativamente de IAC 112, pelo teste bicaudal de Wilcoxon ($p > 0,10$). ^{nsZ} Não difere significativamente de Zélia, pelo teste bicaudal de Wilcoxon ($p > 0,10$). R: resistente, MS: medianamente susceptível e S: susceptível.

As estimativas de correlação feitas entre os valores de severidade nas três últimas avaliações e AACPD indicam que, para ambas as doenças, a última avaliação (aproximadamente 105 dias após a semeadura) foi a que resultou em informações mais próximas daquelas providas pela AACPD (coeficiente de 0,67 para helmintosporiose; e de 0,93 para cercosporiose) (Quadro 23). Esses valores denotam alta associação no caso de cercosporiose, mas não para helmintosporiose. Assim, seria possível realizar apenas uma avaliação aos 105 dias para cercosporiose, enquanto para helmintosporiose ter-se-ia incorrido em perdas relevantes de informação procedendo desta forma.

Quadro 22 - Resumo das considerações feitas com base nos valores de avanço (VdA) dos novos híbridos quanto a indicação dos melhores híbridos para sanidade foliar.

Híbridos	Soma dos valores de avanço (SVdA)	Considerações
03, 17, 23, 30 e 35	3 ou 2,5	sem restrições quanto às duas doenças
10	2	sem restrições quanto às duas doenças
01, 02, 04, 09, 16, 23, 25, 28, 29, 31, 33, 34, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 49 e 55.	2	restrição para cercosporiose

A mensuração da eficiência de uma só avaliação de doenças, quando comparada a AACPD – critério mais fidedigno para tal intento (Von Pinho et al., 1999) – é importante, pois para programas de melhoramento de milho que visam

a resistência à doenças e avaliam um grande número de genótipos, as altas associações entre severidade e AACPD permitem discriminar a resistência apenas por uma avaliação, despendendo menor tempo.

Análises das correlações entre AACPD e intensidade de doença na última avaliação foram realizadas para outros patossistemas do milho, tais como os que envolvem os fungos *Phaeosphaeria maydis* (Souza e Duarte, 2002) e *Cercospora zae-maydis* (Brunelli, 2004), que causam, respectivamente, a mancha branca e a cercosporiose do milho e demonstraram que é possível proceder com apenas uma avaliação tardia (em grão leitoso à pastoso). As conclusões deste trabalho quanto às correlações para cercosporiose estão em consonância com Brunelli (2004). Contudo, no caso da helmintosporiose, os resultados indicaram que realizar apenas uma avaliação tardia não proporciona dados equivalentes à AACPD, o que poderia comprometer a discriminação da resistência.

Quadro 23 - Estimativas de correlações de postos de Spearman entre os valores de área abaixo da curva de progresso (AACPD) e as severidades nas três últimas avaliações, em dias após a semeadura, (d.a.s.) que compuseram a AACPD

Critério	2ª avaliação (75 d.a.s.)	3ª avaliação (90 d.a.s.)	4ª avaliação (105 d.a.s.)	AACPD
helmintosporiose				
2ª avaliação (75 d.a.s.)	1,000	0,510*	0,364*	0,280*
3ª avaliação (90 d.a.s.)	0,510*	1,000	0,620*	0,587*
4ª avaliação (105 d.a.s.)	0,364*	0,620*	1,000	0,670*
AACPD	0,280*	0,587*	0,670*	1,000
cercosporiose				
2ª avaliação (75 d.a.s.)	1,000	0,151*	0,198*	0,210*
3ª avaliação (90 d.a.s.)	0,151*	1,000	0,676*	0,780*
3ª avaliação (105 d.a.s.)	0,198*	0,676*	1,000	0,932*
AACPD	0,210*	0,780*	0,932*	1,000

*Diferente de zero ($p < 0,10$), pelo teste t. Em negrito, as estimativas mais altas para cada doença.

5. CONCLUSÕES

- a) Há variabilidade genética aditiva e não-aditiva para a resistência à helmintosporiose comum e à cercosporiose, caracterizando uma condição favorável para o melhoramento, porém os genes efeitos aditivos foram predominantes.
- b) As linhagens 8 (P₈) e 9 (P₉) são as que mais contribuem para resistência à helmintosporiose. As linhagens 2 (P₃) e 4 (P_{4.3}) são as mais indicadas para resistência à cercosporiose.
- c) Há maiores possibilidade de melhoramento para resistência à helmintosporiose e cercosporiose utilizando os genes de efeitos aditivos. Para isso, recomenda-se os métodos intrapopulacionais com seleção recorrente e a recombinação das linhagens 2, 4 e 8, na forma do composto denominado 2 × 4 × 8.
- d) Houve maiores dificuldades inerentes à caracterização e melhoramento para resistência à cercosporiose que para helmintosporiose.
- e) Para resistência à ferrugem polissora, os efeitos de genes aditivos foram predominantes. As linhagens P_{8.5} e P_{8.2} do grupo 2-Zaeli são mais indicadas para integrar populações segregantes e devem ser exploradas por métodos intrapopulacionais baseados em seleção recorrente.
- f) Dificuldades inerentes ao melhoramento visando à resistência à ferrugem polissora foram verificadas pelos parâmetros genéticos estimados.
- g) A nova escala aumentou precisão, acurácia e reprodutibilidade das estimativas de severidade de helmintosporiose, sendo a mais eficiente metodologia para avaliações em folhas de milho..
- h) Os 42 novos híbridos de milho-pipoca, testados nos itens 3.4 e 4.4., puderam ser classificados como resistentes à helmintosporiose causada por *E. turcicum*. Oito foram medianamente susceptíveis à cercosporiose.
- i) Por meio da soma dos valores de avanço dos híbridos (SVdA), 26 novos híbridos foram indicados como os melhores para sanidade foliar, podendo ser avançados.
- j) Uma avaliação aos 105 dias após a semeadura discriminou com eficiência os níveis de resistência à cercosporiose. Porém, para helmintosporiose, tal prática comprometeria a discriminação da resistência.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (eds.) **Manual de fitopatologia**, São Paulo: Ceres, 1995. p. 647-671.

ANGELOTTI, F.; SCAPIN, C.R.; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B.; OLIVEIRA, R.R.; CANTERI, M.G. Diagrammatic scale for assessment of grapevine rust. **Tropical Plant Pathology**, 33:439-443, 2008.

ARNHOLD, E. Seleção para resistência a doenças foliares em famílias S₁ de milho-pipoca. **Revista Ceres**, 55:89-93, 2008.

BAILEY, B.A.; SCHUH, W.; FREDERIKSEN, R.A.; BOCKHOLT, A.J. Identification of slow-rusting resistance to *Puccinia polysora* in maize inbreds and single crosses. **Plant Disease**, 71:518-521, 1987.

BARGUIL, B.M.; ALBERT, I.C.L.; MICHEREFF, S.M.; OLIVEIRA, S.M.A. Escala diagramática para a avaliação da severidade de antracnose em bastão do imperador. **Ciência Rural**, 38:807-810, 2008.

BECKMAN, P.M.; PAYNE, G.A. *Cultural techniques and conditions influencing growth and sporulation of Cercospora zea-maydis and lesion development in corn. Phytopathology*, 73:286-289, 1983.

BECKMAN, P.M.; PAYNE, G.A. External growth, penetration, and development of *Cercospora zea-maydis* in corn leaves. **Phytopathology** 72:810–815, 1982.

BERGER, R.D. Measuring disease intensity. In: Teng, P.S.; Krupa, S.V. (eds.) **Crop loss assessment**. St Paul: University of Minnesota, 1980. p. 28-31.

BHATIA, A.; MUNKVOLD, G.P. Relationships of environmental and cultural factors with severity of gray leaf spot in maize. **Plant Disease**, 86:1127-1133, 2002.

BLEICHER, J.; BALMER, E. Efeitos da seleção recorrente fenotípica sobre a resistência a *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonarde & Suggs em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 28:1291-1295, 1993.

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G; POZZA, E.A.; PEREIRA, J.L.A.R.; FARIA FILHO, E.M. Efeito da cercosporiose no rendimento de híbridos comerciais de milho. **Fitopatologia Brasileira**, 32:472-479, 2007.

BRUNELLI, K.R. ***Cercospora zeaе-maydis*: esporulação, diversidade morfo-genética, e reação de linhagens de milho**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004, 105p. Tese (Doutorado em Agronomia).

CAMOCHENA, R.C.; SANTO, I.; MAZARO, S.M. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha ocular em milho causada por *Kabatiella zeaе*. **Ciência Rural**, 38:2124-2131, 2008.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York. John Wiley & Sons. 1990. 532p.

CANTERI, M.G.; PRIA, M.D.; Nascimento, M.A. **Helmap: software para seleção e treinamento de avaliadores de severidade de doenças na cultura do milho**. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 1999. Software de acesso livre.

CARSON, M.L. Response of a maize synthetic to selection for components of partial resistance to *Exserohilum turcicum*. **Plant Disease**, 90:910-914, 2006.

CHÁVEZ-MEDINA, J.A.; LEYVA-LÓPEZ, N.E.; PATAKY, J.K. Resistance to *Puccinia polysora* in maize accessions. **Plant Disease**, 91:1489-1495, 2007.

CIMMYT – International Maize and Wheat Improvement Center. **Gray leaf spot**. Disponível em: http://maizedoctor.cimmyt.org/index.php?option=com_content&task=view&id=237, Acesso em: 20, maio, 2010.

COATES, S.T.; WHITE, D.G. Sources of resistance to gray leaf spot of corn. **Plant Disease**, 78:1153-1155, 1994.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Produção de grãos**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/>, 2009. Acesso em: 20, maio, 2010.

CROUS, P.W.; GROENEWALD, J.Z.; GROENEWALD, M.; CALDWELL, P.; BRAUN, U., HARRINGTON, T.C. Species of *Cercospora* associated with grey leaf spot of maize. **Studies in Mycology**, 55:189-197, 2006.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 1997. 442p.

CRUZ, C.D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa:UFV, 2005. 394p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1993. 390p.

CRUZ, J.C; PEREIRA FILHO, I.A. **Comportamento das cultivares de milho disponíveis no mercado brasileiro na safra 2007/08 em relação às principais doenças**, 2008. Available at: <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/tabela2.htm>. Acessado em 15 de Abril de 2009.

DAVIS, R.L. Report of the plant breeder. **Agricultural Experimental Station Annual Reporter**, 1:14-15, 1927.

DERERA, J.; TONGOONAA, P.; PIXLEY, K. V.; VIVEK, B.; LAING, M.D.; VAN RIJ, N.C. Gene action controlling gray leaf spot resistance in Southern African maize germplasm. **Crop Science**, 48:93-98, 2008.

DÍAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; BERGAMIN FILHO, A. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, 27:35-39, 2001.

DONAHUE P.J.; STROMBERG, E.L.; MYERS, S.L.; Inheritance of reaction to gray leaf spot in a diallel cross of 14 maize inbreds. **Crop Science**, 41:926-931, 1991.

DONG, J.; FAN, Y.; GUI, X.; AN, X.; MA, X.; DONG, Z. Geographic distribution and genetic analysis of physiological races of *Setosphaeria turcica* in Northern China. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, 3:389-398, 2008.

DUVICK, D.N. Plant breeding, an evolutionary concept. **Crop Science**, 36:539-548, 1996.

ELWINGER, G.F.; JOHNSON, M.W.; HILL Jr., R.R.; AYERS, J.E. Inheritance of resistance to gray leaf spot of corn. **Crop Science**, 30:350-358, 1990.

FANTIN, G.M.; SAWAZAKI, E.; BARROS, B.C. Avaliação de genótipos de milho pipoca quanto a resistência a doenças e qualidade de pipoca. **Summa Phytopathologica**, 17:90-99, 1991.

FANTIN, G.M.; SILVA, H.P.; BALMER, E.; MIRANDA FILHO, J.B. de. Herança da resistência à ferrugem causada por *Puccinia polysora* em milho. **Fitopatologia Brasileira**, 18:332-333, 1993.

FERNANDES, M.C.A.; BALMER, E. Variabilidade de isolados de *Exserohilum turcicum* em cultivares de milho (*Zea mays*). **Revista da Universidade Rural - Série Ciências da Vida**, 22:1-5, 2002.

FISHER, D.E.; HOOKER, A.L.; LIM, S.M.; SMITH, D.R. Leaf infection and yield loss caused by four *Helminthosporium* leaf diseases of corn. **Phytopathology**, 66:942-944, 1976.

FROSI, J.F. **Níveis de resistência à *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs em milho**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1991. 96p. Tese (Doutorado em Agronomia).

FUZATTO, S.R. **Dialelo parcial circulante interpopulacional em milho (*Zea mays* L.): Efeito do número (s) de cruzamentos**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2003, 131p. Tese (Doutorado em Agronomia).

GARDNER, C.O.; EBERHART, S.A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics** 22: 439-452, 1966.

GEVERS, H.O.; LAKE, J.K.; HOHLS, I. Diallel cross analysis of resistance to gray leaf spot in maize. **Plant Disease**, 78:379-383, 1994.

GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; CANTERI, M.G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, 31:63-68, 2006.

GOMES, A.M.A.; MICHEREFF, S.J.; MARIANO, R.L.R. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. **Summa Phytopathologica**, 30:38-42, 2004.

GORDON, S.G.; LIPPS, P.E.; PRATT, R.C. Heritability and components of resistance to *Cercospora zea-maydis* derived from Maize Inbred VO613Y. **Phytopathology**, 96:593-598, 2006.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. **Australian Journal of Biological Science**, 9:463-493, 1956.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University Press, 1995. 468p.

HOLLAND, J.B.; UHR, D.V.; JEFFERS, D.; GOODMAN, M.M. Inheritance of resistance to southern corn rust in tropical-by-corn-belt maize populations. **Theoretical and Applied Genetics**, 96:232-241, 1998.

HUFF, C.A.; AYERS, J.E.; HILL Jr., R.R. Inheritance of resistance in corn (*Zea mays*) to gray leaf spot. **Phytopathology**, 78:790-794, 1998.

IGC – International Grains Council. **World market**. Disponível em: <http://www.igc.org.uk/en/Default.aspx>. Acessado em: 15, novembro, 2009.

ISSA, E. Controle químico de *Helminthosporium turcicum* Pass em milho pipoca, *Zea mays* L. **O Biológico**, 49:41-43, 1983.

JENKINS, M.T.; BRUNSON, A.M. Methods of testing inbred lines of corn in crossbreeding combinations. **Journal American Society Agronomy**, 14:523-530, 1932.

JINKS, J.L.; HAYMAN, B.I. The analysis of diallel crosses. **Maize Genetics Corporation News Letter**, 27:48-54, 1953.

JONES D.F. (1918) The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. **Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin**, 207:5-100.

KAMIKOGA, A.T.M.; SALGADO, C.L.; BALMER, E. Reações de diferentes populações de milho pipoca (*Zea mays*) a *Helminthosporium turcium*. **Summa Phytopathologica**, 17:100-104, 1991.

KANG, M.S. **Applied quantitative genetics**. Los Angeles: M.S. Kang Publication. 1994. 157p.

KANTETY, R.; ZENG, X.P.; BENNETZEN, J.; ZEHR, B.E. Detection of high levels of polymorphism among dent and popcorn inbred lines using Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) amplication technique. **Maize. News Letters**. 69:132–134, 1995.

KEMPTHORNE, O.; CURNOW, R.N. The partial diallel cross. **Biometrics**, 17:229-250, 1961.

KOHATA, L.L.; MAY-DE-MIO, L.L.; DALLA-PRIA, M.; SANTOS, H.A. Escala diagramática para avaliar míldio na soja. **Scientia Agraria**, 9:105-110, 2008.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: Kranz, J., Rotem, J. (Eds.) **Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology**. New York: Springer Verlag, 1988. p. 35-50.

LINARES, E. **Seleção recorrente recíproca em famílias de meio-irmãos em milho pipoca (*Zea mays* L.)**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1987. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

MANH, N.Q. **Inheritance of resistance to gray leaf spot in maize**. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

MAROOF, M.A.S.; VAN SCOYOC, S.W.; YU, Y.G.; STROMBERG, E.L. Gray leaf spot disease of maize: Rating methodology and inbred line evaluation. **Plant Disease**, 77:583-587, 1993.

MARTINS, M.C.; GUERZONI, R.A.; CÂMARA, G.M.S.; MATTIAZZI, P.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira**, 29:179-184, 2004.

MATHIONI, S.M. **Agressividade de isolados de *Cercospora zae-maydis* em genótipos de milho**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006, 55p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

MELCHING, J.S. Corn rusts: types, races and destructive potential. In: **Annual Corn and Sorghum Research Conference 30**, Washington: American Seed Trade Association, 1975. p. 90-115.

MENKIR, A.; AYODELE, M. Genetic analysis of resistance to gray leaf spot of mid altitude maize inbred lines. **Crop Science**, 45:163–170, 2005.

MIRANDA, G.V.; COIMBRA, R.R.; GODOY, C.L.; SOUZA, L.V.; GUIMARÃES, L.J.M.; MELO, A.V. Potencial de melhoramento e divergência genética de

cultivares de milho-pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:681-688, 2003.

MIRANDA, G.V.; SOUZA, L.V.; FIDÉLIS, R.R.; GODOY, C.L.; VAZ DE MELLO, A.; GUIMARÃES, L.J.M. Reação de cultivares de milho-pipoca à helmintosporiose. **Revista Ceres**, 49:513-521, 2002.

MIRANDA, G.V.; SOUZA, L.V.; GALVÃO, J.C.C.; GUIMARÃES, L.J.M.; MELO, A.A.; SANTOS, I.C. Genetic variability and heterotic groups of Brazilian popcorn populations. **Euphytica**, 162:431-440, 2008.

PACHECO, C.A.P. **Associação das metodologias de análise dialélica de Griffing e de análise de adaptabilidade e estabilidade de Eberhart e Russell**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 116p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento).

PATAKY, J.K. Relationships between yield of sweet corn and Northern leaf blight caused by *Exserohilum turcicum*. **Phytopathology**, 82:370-375, 1992.

PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C.; DUARTE, A.P.; GALLO, P.B. Diallel crosses among maize lines with emphasis on resistance to foliar diseases. **Genetics and Molecular Biology**, 23:381-385, 2000.

PAUL, P.A.; MUNKVOLD, G.P. Influence of temperature and relative humidity on sporulation of *Cercospora zea-maydis* and expansion of gray leaf spot lesions on maize leaves. **Plant Disease**, 89:624-630, 2005.

PEGORARO, D.G.; BARBOSA NETO, J.F.; SOGLIO, F.K.D.; VACARO, E.; NUSS, C.N.; CONCEIÇÃO, L.D.H. Herança da resistência à mancha foliar de feosféria em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 37:329-336, 2002.

PERKINS, J.M.; PEDERSEN, W.L. Disease development and yield losses associated with northern leaf blight on corn. **Plant Disease**, 71:940-943, 1987.

PINHO, R.G.V.; RAMALHO, M.A.P.; SILVA, H.P.; RESENDE, I.C.; POZAR, G. Danos causados pelas ferrugens polissora e tropical no milho. **Fitopatologia Brasileira**, 24:400-409, 1999.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; BRESOLIN, A.C.R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 2004. 141p.

RINGER, C.E.; GRYBAUSKAS, A.P. Infection cycle components and disease progress of grey leaf spot on field cover. **Plant Disease**, 79:24-28, 1995.

RODRIGUES, M.C.; CHAVES, L.J.; PACHECO, C.A.P. Heterosis in crosses among white grain maize populations with high quality protein. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41:59-66, 2006.

RODRIGUES-ARNON, R., SCOTT, G.E.; KING, S.B. Maize yield losses caused by southern corn rust. **Crop Science**, 20:812-814, 1980.

SANCHES, R.E. **Análise dialélica de linhagens de milho-pipoca para resistência à ferrugem tropical (*Physopella zae*)**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2010. 50p. Dissertação (Mestrado em Agronomia).

SCAPIM, C.A.; PACHECO, C.A.P.; TONET, A.; BRACCINI, A.L.; PINTO, R.J.B. Análise dialélica e heterose de populações de milho-pipoca. **Bragantia**, 61:219-230, 2002.

SCHECHERT, A.W.; WELZ, H.G.; GEIGER, H.H. QTL for resistance to *Setosphaeria turcica* in tropical African maize. **Crop Science**, 39:514-523, 1999.

SCOTT, G.E.; ZUMMO, N. Effect of genes with slow-rusting characteristics on southern corn rust in maize. **Maize Newsletter**, 70:50-54, 1989.

SHERWOOD, R.T.; BERG, C.C.; HOOVER, M.R.; ZEIDERS, K.E. Illusions in visual assessment of stagonospora leaf spot of orchardgrass. **Phytopathology**, 73:173-177, 1983.

SHURTLEFF, M.C. **Compendium of Corn Diseases**. St. Paul: APS Press, 1992. 105p.

SIGULAS, K.M.; HILL Jr., R.R.; AYERS, J.E. Genetic analysis of *Exserohilum turcicum* lesion expansion on corn. **Phytopathology**, 78:149-153, 1988.

SILVA, H.P. **Incidência de doenças fúngicas na safrinha**. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO SAFRINHA, 1997, Assis. **Resumos...** Campinas: IAC, 1997. p. 81-86.

SILVA, H.P.; BARBOSA, M.P.M.; NASS, L.L.; CAMARGO, L.E.A. Capacidade de combinação e heterose para resistência a *Puccinia polysora* Underw. em milho. **Scientia Agricola**, 58:777-783, 2001.

SMITH, K.L. **Epidemiology of gray leaf spot of field corn (*Zea mays* L.) caused by *Cercospora zeae-maydis* Tehon & Daniels**. Maryland: University of Maryland, 1989. 170 p. (PhD of Agronomy).

SOARES, A.M.Q.; LOPES, C.A.; REISFSCHEIDER, F.J.B. Avaliação de populações de milho pipoca para resistência à *Exserohilum turcicum*. **Horticultura Brasileira**, 11:22-24, 1993.

SOUZA, J.C.; DUARTE, J.M. Reação de cultivares de milho a *Phaeosphaeria maydis*. **Ciência e Agrotecnologia**, 26:325-331, 2002.

SPÓSITO, M.B.; AMORIM, L.; BELASQUE JÚNIOR, J.; BASSANEZI, R.B.; AQUINO, R. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, 29:81-85, 2004.

SPRAGUE, G.F.; TATUM, L.A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, 34:923-932, 1942.

TAKAMIYA, Y.; SHIGEYUKI, S. Varietal difference and genetic analysis of field resistance to Northern leaf blight in maize inbred lines. **Bulletin of Hokkaido Prefectural Agricultural Experiment Stations**, 78:59-67, 2000.

THOMPSON, D.L.; BERGQUIST, R.R.; PAYNE, G.A.; BOWMAN, D.T.; GOODMAN, M.M. Inheritance of resistance to gray leaf spot in maize. **Crop Science**, 27:243–246, 1987.

ULLSTRUP, A.J. Disease of corn. In: SPRAGUE, G.F. (Ed.) **Corn and Corn Improvement**. Madison: American Society of Agronomy Press. 1977, p. 391-500.

ULLSTRUP, A.J. Inheritance and linkage of a gene determining resistance in maize to an American race of *Puccinia polysora*. **Phytopathology**, 55:425-428, 1965.

ULRICH, J.F.; HAWK, J.A.; CAROLL, R.B. Diallel analysis of maize inbreds for resistance to gray leaf spot. **Crop Science**, 30:1198–1200, 1990.

VANEGAS-ANGARITAS H.; LEÓN, C.; LÉON, L.N. Análisis genético de la tolerancia a *Cercospora* spp. en líneas endogâmicas de maíz tropical. **Agrociencia**, 41:35-43, 2007.

VEIGA, R.D. **Eficiência dos dialelos circulantes na escolha de genitores, avaliada com simulação de dados**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1998. 95p. (Doutorado em Agronomia).

VENCOVSKY, R. **Alguns aspectos teóricos e aplicados relativos a cruzamentos dialélicos de variedades**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, 1970. 59p. Tese (Livre docência)

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill. 1987. p. 137-214.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.

VERMA, B.N. **Gray leaf spot disease of maize. Loss assessment, genetic studies and for resistance in Zambia**. In: 7th EASTERN AND SOUTHERN AFRICA REGIONAL MAIZE CONFERENCE, 2001, Nairobi. **Proceedings...** Nairobi: CIMMYT-Kenya Agricultural Research Institute, 2001. p. 60-65.

VIÉGAS, A.P. **Alguns fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Agronomia, 1945. (Boletim 8)

VIEIRA, R.A.; TESSMANN, D.J.; HATA, F.T.; SOUTO, E.R. de; MESQUINI, R.M. Resistência de híbridos de milho-pipoca a *Exserohilum turcicum*, agente causal da helmintosporiose do milho. **Scientia Agraria**, 10:391-395, 2009a.

VIEIRA, R.A.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A.; HATA, F.T.; RODOVALHO, M.A. de; BARRETO, R.R. Genetic resistance of new popcorn hybrids to foliar diseases. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 9:140-146, 2009b.

VIEIRA, R.A.; RODOVALHO, M.A. SCAPIM, C.A.; TESSMANN, D.J.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; BIGNOTTO, L.S. Desempenho agronômico de novos híbridos de milho-pipoca no Noroeste do Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 31:29-36. 2009c.

WARD, J.M.J.; NOWELL, D.C. Integrated management for the control of maize gray leaf spot. **Integrated Pest Management Review**, 3:1-12, 1998.

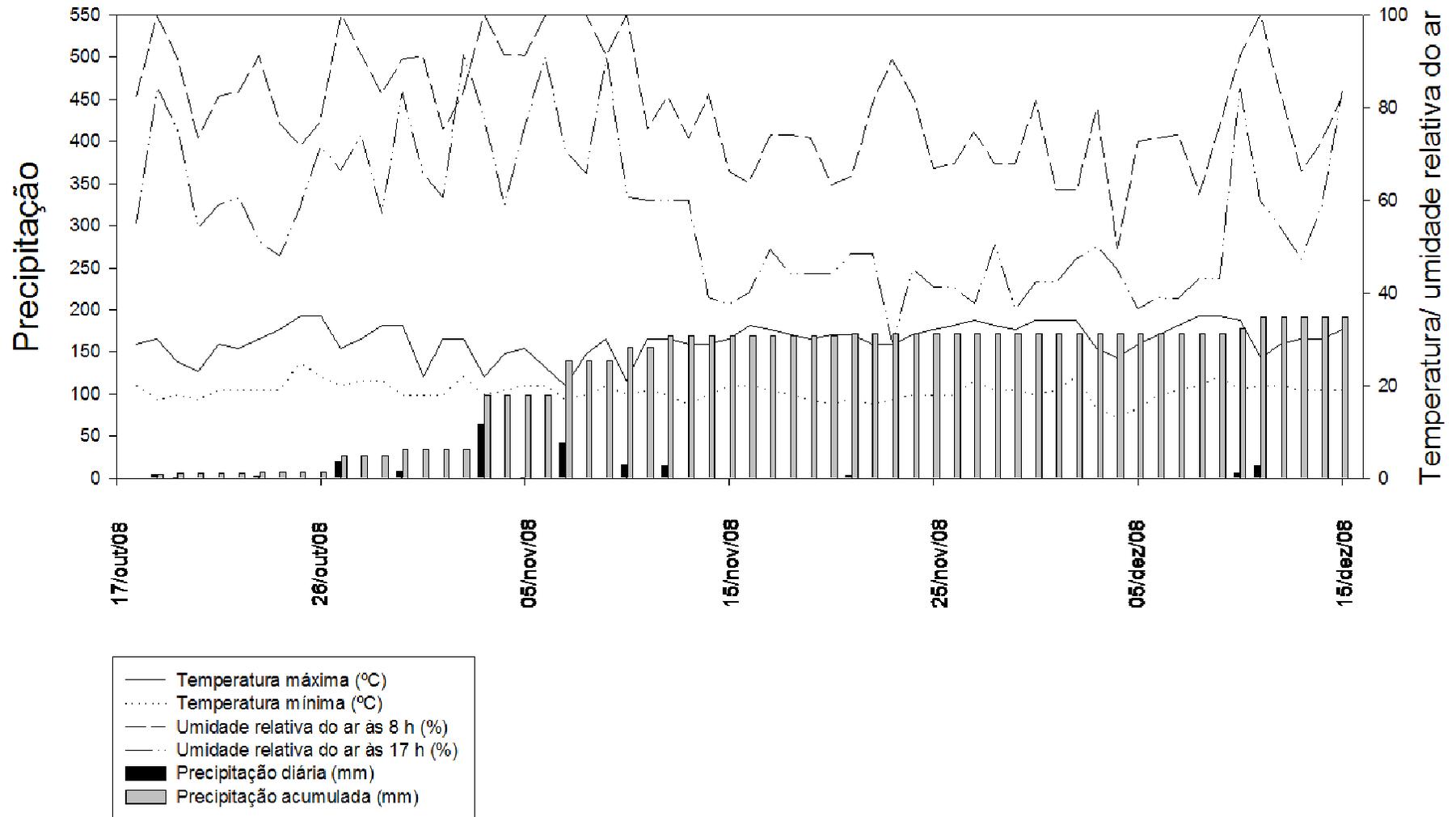
WARD, J.M.J.; STROMBERG, E.L.; NOWELL, D.C.; NUTTER Jr., F.W. Gray leaf spot: A disease of global importance in maize production. **Plant Disease**, 83:884-895, 1999.

WELZ, H.G.; GEIGER, H.H. Genes for resistance to northern corn leaf blight in diverse maize populations. **Plant Breeding**, 119:1-14, 2000.

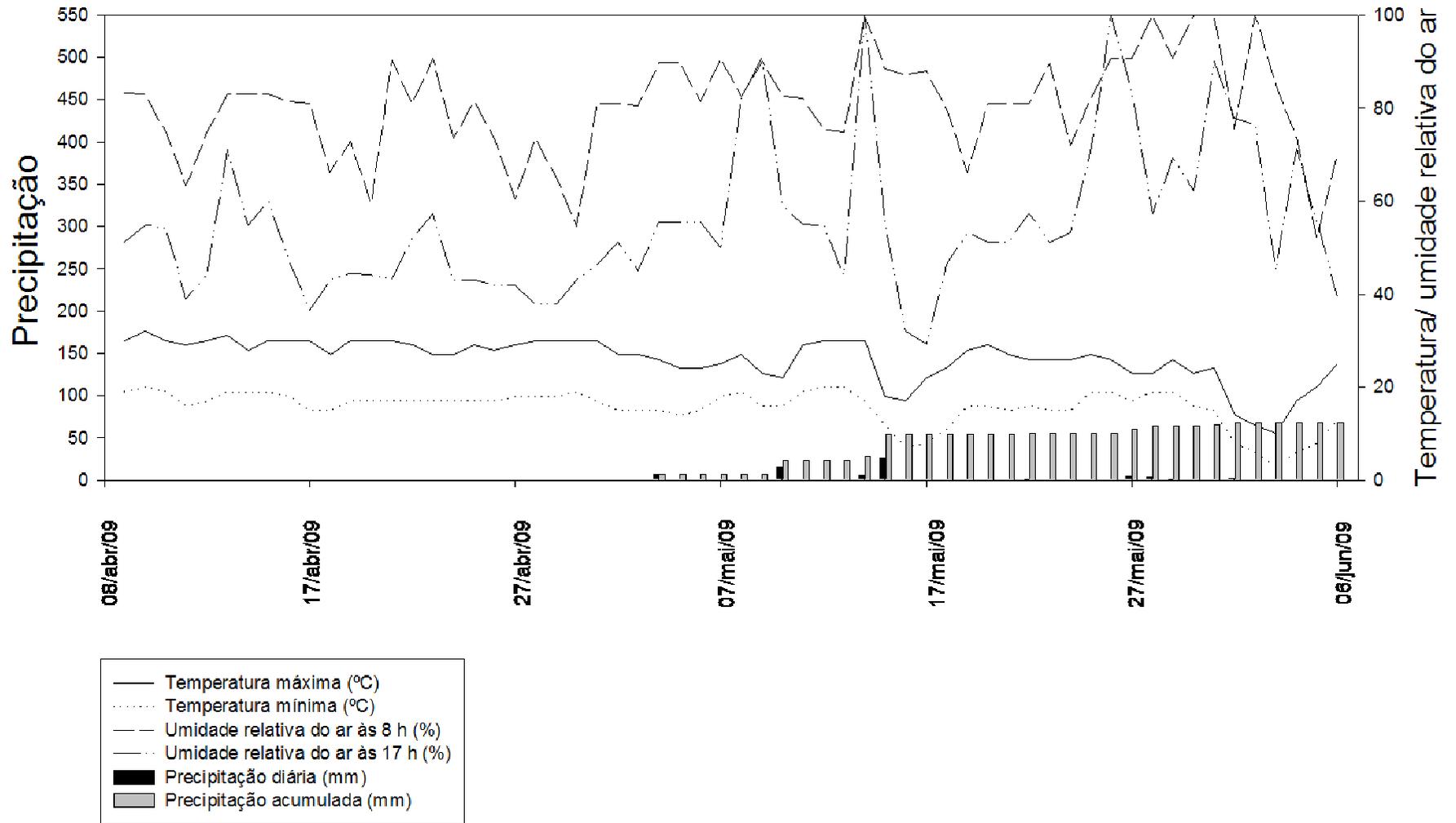
ZIEGLER, K.E.; ASHMAN, B. Popcorn. In: HALLAUER, A.R. (ed.) **Specialty
corns**. Florida: CRC Press, 1994. p. 189-223.

8. ANEXOS

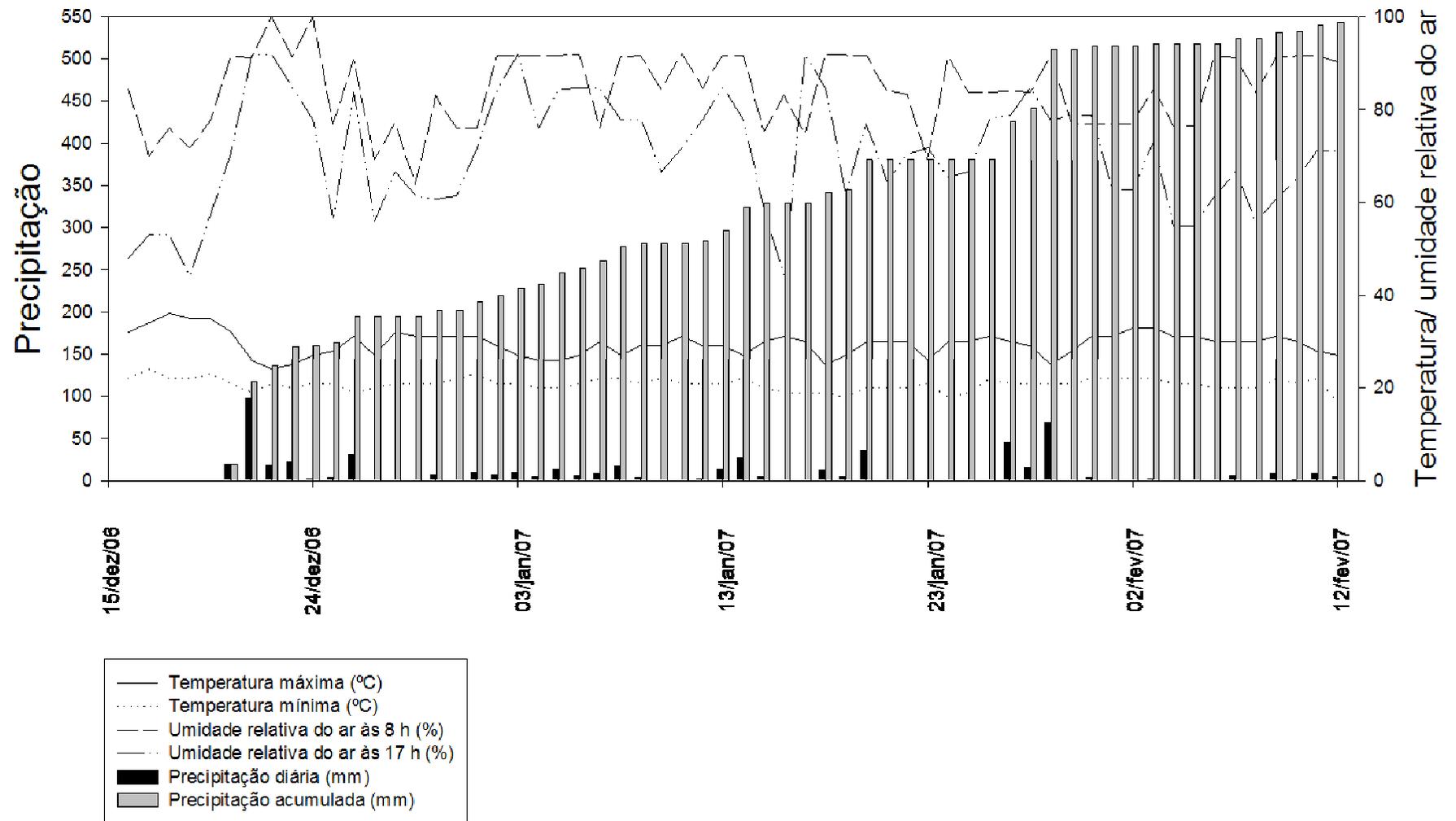
Condições climáticas para os últimos 60 dias anteriores à avaliação do dialelo completo, em primeira safra



Condições climáticas para os últimos 60 dias anteriores à avaliação do dialelo completo, em segunda safra



Condições climáticas para os últimos 60 dias anteriores à última avaliação do dialelo parcial circulante



Condições climáticas para os últimos 60 dias anteriores à última avaliação do *screening* inicial de híbridos

