

Comportamento de híbridos de milho inoculados com os fungos causadores do complexo grãos ardidos e associação com parâmetros químicos e bioquímicos

Behavior of Corn Hybrids Inoculated with kernel-rotting Fungi and Association to Chemical and Biochemical Parameters

Marcelo Cruz Mendes^{1(*)}

Renzo Garcia Von Pinho²

Edila Vilela Resende Von Pinho³

Marcos Ventura Faria⁴

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar híbridos de milho oriundos de empresas sementeiras do Brasil, com e sem a inoculação dos fungos *Fusarium verticillioides*, *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora*, em dois sistemas de cultivo, convencional e sistema de semeadura direta e em dois anos agrícolas e verificar a associação com parâmetros químicos e bioquímicos, que possam estar diretamente relacionados à resistência aos fungos. As características avaliadas foram à produtividade de grãos, a porcentagem de grãos ardidos, os teores de ácidos graxos, as proteínas resistentes ao calor e a atividade da enzima lipoxigenase. A significância do contraste entre os híbridos considerados resistentes versus os híbridos considerados susceptíveis, para produtividade de grãos e porcentagem de grãos ardidos evidência a existência de genótipos com maior resistência os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*. A produtividade de grãos e a porcentagem de grãos ardidos foram influenciadas pelo tipo de híbrido, pelas safras agrícolas e

1 Dr.; Engenheiro Agrônomo; Professor do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO; Endereço: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, *Campus* CEDETEG, CEP: 85040-080, Guarapuava, Paraná, Brasil; E-mail: mcruzmm@gmail.com (*) Autor para correspondência.

2 Dr.; Engenheiro Agrônomo; Professor do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, UFLA; Endereço: Caixa Postal: 37, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil; Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; E-mail: renzo@dag.ufla.br

3 Dra.; Engenheira Agrônoma; Professora do Departamento de Agricultura e do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia e Biotecnologia Vegetal na Universidade Federal de Lavras, UFLA; Endereço: Caixa Postal: 37, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil; Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; E-mail: edila@ufla.br

4 Dr.; Engenheiro Agrônomo; Professor do Departamento de Agronomia e do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO; Endereço: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, *Campus* CEDETEG, CEP: 85040-080, Guarapuava, Paraná, Brasil; Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; E-mail: mfaria@unicentro.br

pelas inoculações artificiais, sendo mais pronunciada no sistema de plantio direto. Não há associação entre a produtividade de grãos e porcentagem de grãos ardidos o que evidencia que as perdas provocadas pela incidência de grãos ardidos em milho não são de caráter quantitativo. Há diferenças nos teores de ácidos graxos linoléico entre os grupos de híbridos estudados, sendo maiores os valores obtidos no grupo de híbridos considerados resistentes ao complexo grãos ardidos. Com base na concentração de frações de proteínas resistentes ao calor, foi possível verificar bandas específicas presentes nos híbridos considerados resistentes aos fungos causadores do complexo grãos ardidos, mais especificamente de peso molecular de 50 kDa. Os perfis eletroforéticos para a lipoxigenase revelam uma maior intensidade de bandas para os híbridos resistentes aos fungos causadores de grãos ardidos em milho.

Palavras-chave: grãos ardidos; *Zea mays*; inoculação artificial; LEA proteína; lipoxigenase.

Abstract

The goal of this work was to evaluate corn hybrids developed by seed companies in Brazil, inoculated and not inoculated with fungi *Fusarium verticillioides*, *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora*, under conventional and direct sowing cropping systems, in two crop seasons and verify the association with chemical and biochemical grain characteristics, which can be directly related to tolerance to the fungi. Grain yield, percentage of rotten grain, fatty acids levels, heat resistant proteins, and lipoxygenase enzyme activity were measured. The significance of the contrast between hybrids considered resistant versus susceptible, for grain yield and rotten grains percentage identified genotypes with higher tolerance the fungi *F. verticillioides*, *S. maydis* and *S. macrospora*. Grain yield and the percentage of rotten grains were influenced by: hybrid type, crop season and by artificial fungi inoculations, being more pronounced in plants coming from direct planting system. There is no association between grain yield and percentage of rotten grains which demonstrated that losses caused by incidence of grain rot disease in corn are not a quantitative character. There are differences in levels of linoleic acid among corn hybrids groups studied, with higher values being obtained in tolerant to grain rot complex. Based on concentration of heat resistant protein fractions it was possible to verify the presence of specific bands in the tolerant hybrids and more specifically in those of 50 kDa molecular weight. The electrophoresis profiles for lipoxygenase reveal higher band intensity for the hybrids tolerant to the corn grain rot causing fungi.

Key words: grain rot; *Zea mays*; artificial inoculation; LEA protein; lipoxygenase.

Introdução

As áreas de cultivo de milho na região Sul de Minas Gerais são caracterizadas por um relevo montanhoso, com altitude geralmente acima de 800 m. A maioria das áreas de cultivo é realizada sob o sistema convencional de cultivo, mas nos últimos anos tem sido observado, aumento nas áreas de cultivo de milho sob plantio direto. Esse aumento de área associado à falta de rotação de culturas, ao monocultivo de milho e as condições climáticas favoráveis tem propiciado o aparecimento de várias doenças, destacando as podridões de grãos e espigas, que provocam o aparecimento de grãos ardidos.

Os fungos mais frequentemente detectados e associados ao “complexo grãos ardidos” são *Fusarium verticillioides*, *Diplodia maydis* (*Stenocarpella maydis*) e *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*). Estes fungos atuam de forma deletéria na qualidade dos grãos e são aceitáveis os valores máximos de 2% de grãos ardidos para a exportação e de 6% para a comercialização no mercado interno.

A ocorrência desses patógenos provoca redução na produtividade de grãos e na qualidade sanitária dos grãos, pois a infecção por esses fungos resulta na paralisação do processo normal de enchimento de grãos e reduz o peso de espigas. O cultivo do milho em monocultura e o plantio direto favorecem a sobrevivência, a manutenção e a multiplicação do inóculo destes fungos (ZAMBOLIM et al., 2000). Dessa forma, torna-se cada vez mais importante a correta escolha do material genético a ser utilizado.

A resistência de genótipos de milho a podridões de grãos e espigas está relacionada ao teor de ácidos graxos do tipo linoléico (ZERINGUE et al., 1996). Esse é o principal ácido graxo insaturado, compreendendo cerca de 62% dos óleos vegetais do milho, sendo

também essencial à nutrição humana e a alguns animais, dada a incapacidade de síntese dos mesmos pelos animais (PAES, 2008).

Quando tecidos de plantas são danificados por patógenos ou mecanicamente, ocorre uma degradação seqüencial de lipídeos que são produtos primários da reação das lipoxigenases. Essas enzimas são ativadas e oxidam os ácidos graxos linoléicos, produzindo uma determinada concentração de aldeídos e compostos voláteis que inibem a formação e o desenvolvimento de fungos em grãos (KIM et al., 2002; WRIGHT et al., 2000).

Um assunto recente e pouco estudado é a influência de Late Embryogenesis Abundant Proteins (LEA Proteínas), presentes em grãos de milho, sobre a resistência de grãos aos fungos que causam grãos ardidos. Cultivares resistentes a condições de estresse e associação com proteínas resistentes ao calor foram selecionadas para feijão-de-corda (BEZERRA, 1996). Dessa forma, este autor sugere estudos sobre a associação destas proteínas à resistência a agentes patogênicos causadores de podridões de espiga. Entretanto, estudos relacionados à influência de compostos químicos, à atividade de enzimas específicas em grãos de milho com a resistência de genótipos associados aos patógenos causadores de grãos ardidos são bastante escassos no Brasil.

Este trabalho teve como objetivos avaliar híbridos comerciais de milho oriundos de empresas produtoras de sementes do Brasil, inoculadas e não inoculadas com os fungos *Fusarium verticillioides*, *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora*, em dois sistemas de cultivo, convencional e sistema de semeadura direta e em dois anos agrícolas; objetivou-se também verificar a associação com parâmetros químicos e bioquímicos, que possam estar diretamente relacionados à resistência a esses fungos.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em dois locais, nas safras agrícolas de 2006/07 e 2007/08. O primeiro experimento foi instalado em Lavras, Minas Gerais (MG). A cidade está situada a 918 m de altitude, a 21°14'30" de latitude Sul e 45°00'10' de longitude Oeste. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é considerado como mesotérmico, apresentando verões brandos e chuvosos (Cwb). Neste local a instalação dos experimentos foi no sistema de plantio convencional, numa área onde é comum o plantio de milho após milho, sem rotação de culturas.

O segundo experimento foi instalado na Fazenda Palheta, no município de Luminárias (MG), onde os verões são brandos e chuvosos (Cwb). Nesta segunda área, os experimentos foram instalados em sistema de plantio direto, adotando como cultura de inverno, o nabo forrageiro e/ou tremoço, em sucessão ao milho.

Os experimentos foram instalados na primeira quinzena do mês de novembro e as colheitas ocorreram na primeira quinzena de maio, após a maturidade fisiológica. Foram utilizados dez híbridos de milho, sendo divididos em dois grupos de acordo com a sua reação aos fungos *Fusarium verticillioides*, *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* baseado em dados fornecidos pelas empresas produtoras de sementes. Os grupos foram: grupo 1, composto por híbridos resistentes (AG 6018, AG 8021, DKB 199, 2 A 525 e NB 7215) e grupo 2, por híbridos suscetíveis (DKB 350, DKB 390, P30F53, 2 B 710 e NB 7210). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com três repetições, em esquema fatorial 10 x 4, sendo dez híbridos de milho e quatro tratamentos de inoculação de fungos patogênicos, sendo

três com inoculação artificial dos fungos *Fusarium verticillioides*, *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* e um tratamento testemunha, sem inoculação.

Para proceder à inoculação artificial, foram cedidas pela empresa Monsanto do Brasil S.A., amostras de grãos de milho infectadas com os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*, sendo estas oriundas dos municípios de Uberlândia (MG), Chapadão do Sul (MS) e Iraí de Minas (MG), respectivamente. Estes fungos foram isolados, em meio de cultura batata - dextrose - ágar (BDA), purificados para a produção de conídios a serem utilizados nas inoculações. A suspensão de conídios utilizada nos trabalhos de inoculação foi ajustada por meio de contagem em câmara de Neubauer para 4×10^4 conídios ml^{-1} . As inoculações foram feitas nas duas linhas componentes de cada parcela, sempre no final do dia, quando a temperatura se encontrava amena (MARIO; REIS, 2001).

A incidência de grãos ardidos foi determinada conforme procedimento proposto na portaria nº 11, de 12/04/96 (BRASIL, 1996). Para a determinação da produção de grãos por hectare, foi realizada a colheita manual das espigas das duas fileiras da parcela. As espigas foram debulhadas, os grãos pesados e o teor de água dos grãos determinados. Os dados de produtividade de grãos foram corrigidos para um teor de 13% de umidade e expressos em kg ha^{-1} . Os teores de ácidos graxos foram analisados com grãos produzidos na safra (2006/07) e as análises de bioquímicas com grãos produzidos na safra (2007/08). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram obtidos segundo metodologia adaptada de Hartman e Lago (1973), citados por Guevara (2003). Os dados foram coletados e trabalhados com auxílio da Work Station Varian Star,

sendo adotado o modo de injeção “splitless”. Uma amostra de grãos composta de cada híbrido foi embebida durante cinco horas, para a extração dos eixos embrionários para realização da corrida eletroforética de LEA Proteína, e maceração de sementes inteiras para a avaliação da Lipoxigenase, sendo as análises dos géis conforme Alfenas (2006).

Inicialmente, realizou-se a análise de variância individual e posteriormente a análise conjunta envolvendo os dois anos agrícolas dentro de cada sistemas de cultivo. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de agrupamento de médias Skott Knott por meio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2002). Para a realização dos contrastes entre as médias, os dez híbridos foram separados em dois grupos, um considerado resistente e outro considerado susceptível ao complexo de grãos ardidos. Para avaliar o efeito nos grupos de híbridos, os tratamentos foram divididos de acordo com dados repassados pelas empresas e as inoculações artificiais realizadas: (R) considerados resistentes; (S) considerados susceptíveis; (T) testemunhas (sem inoculação); (I) inoculados, (F) inoculado com o fungo *F. verticillioides* e (St) as inoculações com os fungos *S. macrospora* e *S. maydis*.

Desse modo, foram realizados quatro contrastes ortogonais (R vs S, T vs I, T vs F, T vs St), visando comparar os grupos de híbridos em relação a produtividade de grãos e grãos ardidos, em cada safra agrícolas. Foi obtido também, correlações simples de Pearson, entre as características agrônômicas (produtividade de grãos e porcentagem de grãos ardidos), utilizando o programa estatístico GENES (CRUZ, 2007). Foi realizado também análise de variância individual para as análises químicas do perfil dos ácidos graxos, sendo os dados submetidos ao teste de

médias Skott Knott, por meio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2002).

Resultados e Discussão

Na primeira safra (2006/07) o híbrido mais produtivo foi o DKB 390, com produtividade superior a 11.000 kg ha⁻¹, seguido dos híbridos P 30F53, 2 A 525 e DKB 199, que não diferiram entre si. Já na segunda safra (2007/08) o P 30F53 foi o híbrido mais produtivo, com média superior a 10.000 kg ha⁻¹, apesar de não diferir estatisticamente dos híbridos NB 7210, DKB 390 e NB 7215. Os híbridos AG 6018 e DKB 350 foram os menos produtivos, com produtividade inferior a 8.100 kg ha⁻¹. Estes valores de produtividades estão acima das médias do estado de Minas Gerais, que são inferiores a 4.500 kg ha⁻¹ (CONAB, 2008). Houve diferença na produtividade de grãos entre as safras agrícolas, sendo que, na primeira safra (2006/07) a produtividade de grãos foi superior em cerca de 1500 kg ha⁻¹.

Nos tratamentos inoculados pelo fungo *F. verticillioides*, os híbridos DKB 390 e P 30F53 obtiveram as maiores produtividades, com média superior a 10.000 kg ha⁻¹. Vale ressaltar que estes híbridos são pertencentes ao grupo considerado como susceptível ao complexo de grãos ardidos, não diferindo entre si dos híbridos 2 B 710, NB 7210 e 2 A 525. Nos tratamentos inoculados com os fungos causadores da podridão branca da espiga, para o fungo *S. maydis* não houve diferenças significativas entre os híbridos inoculados. Porém, houve diferença significativa para a inoculação com *S. macrospora*, sendo os híbridos DKB 390, P 30F53, DKB 199, 2 A 525 e NB 7215 os que obtiveram a maior produtividade de grãos. Dentre estes híbridos existem aqueles considerados como

resistentes e também susceptíveis, de acordo com as empresas produtoras de sementes. Esses resultados confirmam o relato feito por Wisner et al. (1960), de que não existe germoplasma com resistência completa a *Stenocarpellas* spp. Ficou evidenciado também, que existe variabilidade genética para resistência a *Stenocarpellas* spp., o que sugere que através de programas de melhoramento específicos, possa-se conseguir híbridos resistentes a podridão branca da espiga.

Nos tratamentos testemunha (sem inoculação), os híbridos mais produtivos foram o 2 A 525, AG 8021, considerados resistentes e o DKB 390 considerado susceptível, ambos com produtividades de grãos superiores a 10.000 kg.ha⁻¹. É importante enfatizar que esses híbridos não diferiram dos híbridos 2 A 525, P 30F53 e NB 7210 (Tabela 1). Vale ressaltar ainda que, o fato do híbrido ter sido mais produtivo não necessariamente acarretará em uma menor incidência de grãos ardidos, além de que, a resistência do material a podridão de grãos apresenta herança quantitativa, sendo altamente influenciada pelo ambiente. Para evidenciar isso, quando se analisa as médias de produtividade de grãos dos diferentes tratamentos inoculados artificialmente (*F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*), verifica-se que estas estiveram próximas da média do tratamento testemunha (sem inoculação), que foi de 9.353 kg ha⁻¹ (Tabela 1).

A significância da interação híbridos x inoculações x safras, para a incidência de grãos ardidos, permite inferir que há diferenças na reação dos híbridos avaliados quando inoculados artificialmente com os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora* e que isso é dependente das safras agrícolas (Tabela 1). Os valores foram superiores na segunda safra (2007/08) para os tratamentos

inoculados com os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*, bem como para o tratamento testemunha (T) sem inoculação. Este fato pode ser explicado pela maior intensidade de chuvas no final do ciclo da cultura. Ribeiro et al. (2005) também obteve diferentes incidências de grãos ardidos, para três híbridos de milho quando comparados em diferentes safras agrícolas. Na primeira safra (2006/07), apenas para a inoculação artificial com o fungo *S. macrospora* houve diferença significativa entre os híbridos. A maior incidência de grãos ardidos foi para o híbrido DKB 390, considerado susceptível e a menor incidência para o híbrido DKB 199, considerado resistente (Tabela 1).

Com base na infecção natural, representada pelo tratamento testemunha (T – sem inoculação), houve diferença significativa entre os híbridos na segunda safra (2007/08), onde o híbrido AG 6018 obteve a menor porcentagem de grãos ardidos (3,81%), considerado resistente, e a maior porcentagem de grãos ardidos foi detectada no híbrido NB 7210 (14,93%), pertencente ao grupo de híbrido considerado susceptível pelas empresas produtoras de sementes ao complexo grãos ardidos (Tabela 1).

A elevada incidência de *F. moniliforme* em grãos de milho já foi descrita por vários autores, como Luz e Pereira (1998) e Pinto (1998). Reid et al. (1999) consideram esse fungo endofítico e onipresente na natureza, contudo, nem sempre patogênico. Entretanto, Munkvold et al. (1997) relatam a possibilidade de infecção sistêmica a partir do inóculo da semente ou através dos restos culturais presentes na superfície do solo, resultando na infecção das espigas e dos grãos.

Para os resultados da inoculação artificial com o fungo *F. verticillioides*, o híbrido que apresentou a maior incidência

Tabela 1. Resultados médios de porcentagem de grãos ardidos em dez híbridos de milho, em função da inoculação com os fungos *F. verticilloides* (F), *S. maydis* (M) e *S. macrospora* (MA) e do tratamentos testemunha (T – sem inoculação) em função das safras agrícolas (2006/07 e 2007/08), em sistema de cultivo convencional

Híbridos	Safra 2006/07				Safra 2007/08			
	F	M	MA	T	F	M	MA	T
AG 6018	2,63 aB	2,90 aB	2,03 aB	4,53 aA	21,56 cA	14,47 dA	24,33 eA	3,81 aA
AG 8021	3,40 aB	5,50 aB	3,13 aB	3,46 aB	13,89 bA	11,91 cA	11,12 bA	7,50 bA
DKB 199	2,73 aB	2,82 aA	3,63 aA	3,26 aA	15,87 bA	3,01 aA	4,93 aA	6,41 bA
2 A 525	4,20 aA	2,93 aB	7,70 bA	7,33 aA	6,89 aA	9,65 bA	4,39 aA	4,84 aA
NB 7215	7,06 aB	5,63 aA	5,13 aB	4,26 aA	13,75 bA	8,62 Ba	12,47 bA	6,41 bA
DKB 350	6,00 aB	6,06 aB	2,03 aB	4,13 aA	21,51 cA	17,74 eA	16,60 cA	4,29 aA
DKB 390	5,90 aB	5,50 aB	7,73 bB	4,06 aB	20,76 cA	24,69 gA	15,26 cA	9,52 cA
P 30F53	4,30 aB	5,93 aB	4,56 aB	4,90 aB	15,03 bA	16,05 dA	13,80 bA	10,67 cA
2 B 710	4,17 aA	5,63 aB	3,76 aB	4,63 aB	4,72 aA	26,44 gA	26,99 eA	8,67 cA
NB 7210	4,80 aB	8,73 aB	6,70 bB	4,83 aB	33,05 dA	22,32 gA	21,37 dA	14,93 dA
MÉDIAS	4,52 A	5,16 A	4,64 A	4,54 A	16,70 A	15,50 A	15,12 A	7,70 B

Nota: Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott Knott, em nível de significância de 5%.

de grãos ardidos na segunda safra (2007/08) foi o híbrido NB 7210, com mais de 33% de grãos ardidos, sendo os híbridos 2 A 525 e 2 B 710 os que obtiveram as menores porcentagens 6,89 e 4,72%, respectivamente. Estes valores são superiores ao índice máximo aceitável para fim de exportação de grãos de milho que é de 2% (MENEGAZZO, et al., 2001). Ao mesmo tempo em que *F. verticilloides* causa prejuízos econômicos, desvalorização do produto final, também causa problemas devido ao seu potencial como agente produtor de micotoxinas, principalmente das fumonisinas, as quais estão relacionadas a danos à saúde humana e animal (MUNKVOLD; DESJARDIN, 1997).

Nas avaliações das inoculações com o fungo *S. maydis*, o mesmo híbrido NB 7210, que hora foi susceptível para o fungo *F. verticilloides*, foi também o híbrido que

obteve também a maior porcentagem de grãos ardidos, seguido dos híbridos DKB 390 e 2 B 710, sendo os valores superiores a 22% de grãos ardidos (Tabela 1). O fato de ter havido híbridos com elevadas porcentagens de grãos ardidos, quando inoculado com a *S. maydis*, permite-nos inferir que existe diferença entre os híbridos avaliados e que os mesmos possuem comportamento diferente para os fungos em estudos. Segundo Flett e McLaren (1994), para que sejam detectadas diferenças quanto à reação de híbridos, é necessária uma incidência mínima de 17% de grãos infectados. Estes híbridos estão enquadrados no grupo considerado pelas empresas produtoras como susceptíveis a podridões de grãos.

Para as inoculações artificiais com a *S. macrospora*, o híbrido 2 B 710 obteve a maior incidência de grãos ardidos, com um valor de 26,99%, pertencente ao grupo de híbridos

considerados susceptíveis. O híbrido que obteve o menor percentual foi o 2 A 525, com 4,39%, pertencente ao grupo considerado como resistente aos fungos causadores de podridão.

Trabalhos de pesquisas conduzidos na região sul do Brasil, na cultura do milho, tem obtidos maiores incidências de *S. macrospora* em relação a *S. maydis* (DEL RIO, 1990; MARIO; REIS, 2003). Porém, para os experimentos conduzidos na região do Sul de Minas Gerais, as porcentagens médias de grãos ardidos obtidas para os tratamentos inoculados com *S. maydis* e *S. macrospora* foram semelhantes, mesmo na segunda safra (2007/08), cujos valores foram mais expressivos, com valores de 15,50 e 15,12%, respectivamente (Tabela 1).

Com base nestes resultados, ficou evidente que é possível avaliar a resistência de híbridos de milho, aos fungos *F. verticilioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*, nas condições climáticas da região do Sul de Minas Gerais, por meio de inoculações artificiais. Para a característica produtividade de grãos considerando os contrastes de médias entre os híbridos considerados resistentes e susceptível (R vs. S), somente foi significativo o contraste na segunda safra (2007/08), com

mais de 90% de probabilidade (Tabela 2). Porém, não é possível afirmar que o fato do híbrido ser mais ou menos produtivo, condicionará uma maior ou menor resistência às podridões de espigas.

Para os contrastes envolvendo a porcentagem de grãos ardidos, o contraste (R vs. S), foi significativo com mais de 95% de probabilidade, nas duas safras agrícolas (2006/07 e 2007/08) (Tabela 2). Estes resultados confirmam os dados repassados pelas empresas produtoras de sementes, quanto à resistência ao complexo de grãos ardidos, além de evidenciar a existência de variação quanto à resistência nos híbridos analisados. Quando analisados os contrastes testemunha vs inoculações, testemunha vs *F. verticilioides*, testemunha vs *S. maydis* e *S. macrospora*, verifica-se significância somente na segunda safra (2007/08) para grãos ardidos. É importante enfatizar que o fato de ter havido uma alta significância, mais de 95% de probabilidade, para os contrastes envolvendo os tratamentos inoculados com os fungos causadores de grãos ardidos vs. os tratamentos testemunha (sem inoculação), justifica a utilização da inoculação artificial, quando se pretende avaliar a resistência de aos fungos *F. verticilioides*, *S. maydis*

Tabela 2. Probabilidade de significância dos contrastes para produtividade de grãos (PROD) e porcentagem de grãos ardidos (GA), envolvendo os tratamentos inoculados artificialmente com os fungos *Fusarium verticilioides* (F), *Stenocarpella maydis* (M) e *Stenocarpella macrospora* (MA) e um tratamento testemunha (T), nas safras agrícolas de 2006/07 e 2007/08, em sistema de manejo convencional

Contrastes ¹	Safr 2006/07		Safr 2007/08	
	PROD	GA	PROD	GA
R vs. S	0,66	0,03	0,03	<0,01
T vs. I	0,59	0,25	0,12	<0,01
T vs. F	0,88	0,53	0,16	<0,01
T vs. St	0,29	0,97	0,17	<0,01

Nota: I R (resistente); S (susceptível); T (testemunha); I (inoculação); F (*F. verticilioides*) e St (*S. maydis* e *S. macrospora*).

e *S. macrospora*. Estes resultados já eram esperados, devido à avaliação de porcentagem de grãos ardidos ter apresentado uma maior incidência na segunda safra (2007/08).

Na primeira safra (2006/07), e na segunda safra (2007/08) não houve diferenças significativas para o efeito das inoculações e para a interação híbridos x inoculações na variável produtividade de grãos. Para a porcentagem de grãos ardidos, houve efeito significativo para inoculações e para a interação híbridos x inoculações, nas duas safras agrícolas (2006/07 e 2007/08).

Com base nos resultados obtidos da primeira safra (2006/07) para produtividade de grãos, o híbrido mais produtivo foi o DKB 350, com produtividade de 10.518 kg ha⁻¹, seguido dos híbridos 2 B 710, P 30F53, 2 A 525 e DKB 199, que pertenceram ao mesmo grupo de médias. Já na segunda safra (2007/08) o P 30F53 foi o híbrido mais produtivo, com média de 12.014 kg ha⁻¹, que também não diferiu estatisticamente dos híbridos DKB 390, 2 A 525 e AG 8021.

A produtividade média foi maior na segunda safra (2007/08), com uma diferença de 1.662 kg ha⁻¹, em relação à safra (2006/07). Este fato pode ter sido influenciado pelo excesso de chuvas próximo do período de florescimento ocorrido na primeira safra, pois o período nublado acarreta em queda de produtividade, devido a baixa disponibilidade de radiação solar (FISCHER; PALMER, 1984; FANCELLI; DOURADO-NETO, 2000). Os valores de produtividades estão acima da produtividade média nacional de milho que é de 3.653 kg.ha⁻¹ (CONAB, 2008). Estes resultados corroboram com os obtidos por Ribeiro et al. (2005) que avaliando a incidência de podridões de grãos, obteve também em sistema de plantio direto, produtividades potenciais superiores a 13.000 kg ha⁻¹.

O efeito significativo para a interação híbridos x inoculações x safras, para a incidência de grãos ardidos, permite-nos inferir que há diferenças na reação dos híbridos quando inoculados artificialmente com os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora* e isso também é dependente das safras agrícolas. De acordo com os resultados obtidos nos tratamentos inoculados com os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*, bem como para o tratamento testemunha (T) pode-se observar que, estes foram superiores na segunda safra (2007/08) (Tabela 3).

Estes resultados corroboram com os obtidos por Ribeiro et al. (2005), que obteve diferentes incidências de grãos ardidos, quando comparadas diferentes safras agrícolas. Esses resultados evidenciam o efeito do ambiente na incidência das podridões de espiga.

Na primeira safra (2006/07), apenas para a inoculação artificial com o fungo *S. maydis* houve diferença significativa. A maior incidência de grãos ardidos foi para o híbrido DKB 390, considerado susceptível e a menor incidência para o híbrido AG 6018, considerado resistente. Esses resultados confirmam o relato feito por Wisner et al., (1960), de que não existe germoplasma com resistência completa a *S. maydis*.

Na segunda safra (2007/08), também houve diferença significativa entre os híbridos, para os tratamentos inoculados artificialmente e para a testemunha. Com base nos valores obtidos na infecção natural, no tratamento testemunha (T), a menor incidência foi detectada no híbrido AG 6018 (2,15%) e a maior incidência no híbrido NB 7210 (13,53%). Juliatti et al. (2007) obteve média de porcentagem de grãos ardidos semelhante para o híbrido AG 6018 (2,15%), quando avaliado em sistema de plantio direto, para a região do Triângulo Mineiro em Minas Gerais.

Tabela 3. Resultados médios de porcentagem de grãos ardidos em 10 híbridos de milho, em função da inoculação com os fungos *F. verticilloides* (F), *S. maydis* (M) e *S. macrospora* (MA) e dos tratamentos testemunha (T – sem inoculação) em função das safras agrícolas (2006/07 e 2007/08), em sistema de plantio direto. Fazenda Palheta, Luminárias (MG), 2009

Híbridos	Safr 2006/07				Safr 2007/08			
	F	M	MA	T	F	M	MA	T
AG 6018	1,74 Ab	1,60 aB	1,81 aB	3,37 aA	8,12 cA	11,43 cA	8,29 cA	2,15 aA
AG 8021	2,48 Aa	3,17 aB	1,72 aB	2,92 aA	3,28 aA	8,46 bA	4,85 bA	4,71 bA
DKB 199	2,36 aB	2,84 aA	3,98 aA	2,81 aA	5,76 bA	5,87 aA	1,78 aA	3,03 aA
2 A 525	2,95 Ab	5,10 bB	3,08 aB	3,33 aA	10,21 cA	10,84 cA	6,08 cA	3,10 aA
NB 7215	3,07 aB	7,74 bB	2,97 aB	3,94 aA	13,66 dA	26,33 eA	22,56 eA	5,67 bA
DKB 350	4,05 aA	4,60 bB	3,88 aB	2,83 aB	6,46 bA	19,65 dA	17,11 dA	6,62 bA
DKB 390	3,38 aB	15,08 cB	3,47 aB	2,09 aB	10,54 cA	19,07 dA	31,07 gA	6,77 bA
P 30F53	2,87 aB	2,33 aB	2,63 aB	2,11 aB	7,34 bA	5,78 aA	7,23 cA	9,14 cA
2 B 710	4,59 aB	4,81 bB	3,37 aB	2,92 aA	21,43 eA	24,89 eA	26,75 eA	4,83 bA
NB 7210	4,13 aB	7,08 bB	2,69 aB	3,49 aB	14,49 dA	25,12 eA	39,37 há	13,53 dA
MÉDIAS	4,52 A	5,16 A	4,64 A	4,54 A	16,70 A	15,50 A	15,12 A	7,70 B

Nota: Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott Knott, em nível de significância de 5%.

Para os resultados da inoculação artificial com o fungo *F. verticilloides*, o híbrido que apresentou a maior incidência de grãos ardidos foi o 2 B 710, com 21,43% de grãos ardidos. O híbrido AG 8021 foi o que obteve a menor porcentagem, com 3,28%. Nas inoculações com o fungo *S. maydis*, o híbrido NB 7215 foi o que obteve a maior porcentagem de grãos ardidos, com 26,33%, não diferindo estatisticamente dos híbridos 2 B 710 e NB 7210 (Tabela 3). Para as inoculações artificiais com a *S. macrospora*, o híbrido NB 7210 obteve a maior incidência de grãos ardidos, com 39,37%, o menor percentual foi obtido no híbrido DKB 199 com 1,78% (Tabela 3).

Os altos valores obtidos na incidência de grãos ardidos no híbrido NB 7210 permite-nos inferir que ele apresentou uma menor resistência quando comparados com

aos demais híbridos avaliados, principalmente quando submetido a inoculações artificiais com os fungos *S. maydis* e *S. macrospora*. Segundo Pinto (2001) existem diferentes estratégias no controle de podridões de grãos em milho, sendo uma das melhores alternativas o uso de genótipos resistentes. Desse modo, fica evidente a importância de estudar os mecanismos envolvidos na resistência de híbridos de milho ao complexo grãos ardidos.

Para a produtividade de grãos, somente foi significativo o contraste entre os contrastes de médias entre os diferentes grupos de híbridos, os considerados resistentes e considerados susceptível, para a característica produtividade de grãos, somente foi significativo o contraste na segunda safra (2007/08), com mais de 90% de probabilidade, conforme tabela 4.

Tabela 4. Probabilidade de significância de contrastes para produtividade de grãos (PROD) e porcentagem de grãos ardidos (G.A.), envolvendo os tratamentos inoculados artificialmente com os fungos *Fusarium verticillioides* (F), *Stenocarpella maydis* (M) e *Stenocarpella macrospora* (MA) e um tratamento testemunha (T), nas safras agrícolas de 2006/07 e 2007/08, em sistema de plantio direto. Luminárias (MG) 2009

Contrastes ¹	Safra 2006/07		Safra 2007/08	
	PROD	GA	PROD	GA
R vs. S	0,12	0,04	0,15	<0,01
T vs. I	0,12	0,12	0,73	<0,01
T vs. F	0,05	0,78	0,74	<0,01
T vs. St	0,52	0,04	0,78	<0,01

Nota: I R (resistente); S (susceptível); T (testemunha); I (inoculação); F (*F. verticillioides*) e St (*S. maydis* e *S. macrospora*).

Para os contrastes envolvendo a porcentagem de grãos ardidos, o contraste (R vs. S), foi significativo com mais de 90% de probabilidade para as duas safras agrícolas, conforme tabela 4. Um fator importante para a obtenção destes resultados foram às ocorrências de uma maior frequência de chuvas, principalmente no período após o florescimento da cultura. Trabalhos de pesquisas evidenciam (SANTOS et al., 2002; FERNANDES; OLIVEIRA, 1997) que a ocorrência de altas precipitações pluviais, no período de final de ciclo da cultura acarreta em um maior desencadeamento de podridões de espiga.

Quando analisados os contrastes testemunha vs inoculações, testemunha vs *F. verticillioides*, testemunha vs *S. maydis* e *S. macrospora*, os contrastes foram significativos somente na segunda safra (2007/08). Estes resultados confirmam os obtidos anteriormente, quando analisado conjuntamente as safras agrícolas, demonstrando maior incidência de podridão de grãos na segunda safra (2007/08). Com base nos resultados, podemos inferir que existe variabilidade genética para os fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora* e que, através de um programa de melhoramento

direcionado para esse fim, pode-se conseguir híbridos resistentes à podridão da espiga.

O estudo das correlações torna-se importante quando se deseja analisar o grau de associação entre dois conjuntos de scores referentes a um determinado grupo de indivíduos. A medida usual de correlação é o coeficiente (r) de correlação de Pearson. Se positivo, indica que o aumento de uma determinada característica implicará no aumento da outra, e se negativo, o aumento de uma determinada característica implica na diminuição da outra. A relação é perfeita quando o valor do r for igual a +1 ou -1.

Com base nas variações encontradas para a porcentagem de grãos ardidos, dentro de cada tratamento, eram esperadas por sua vez, que houvesse uma correlação negativa entre a incidência desses fungos nos grãos de milho colhidos com a produtividade de grãos. Contudo, não se observou correlação significativa entre a incidência dos fungos nos grãos e a produtividade de grãos, para as duas safras agrícolas (2006/07 e 2007/08) nos dois sistemas de cultivo (Tabela 5). Estes resultados não corroboram com os obtidos por Santos et al. (2002) que obteve correlação significativa e negativa entre a porcentagem de grãos ardidos e a produtividade de grãos.

Tabela 5. Coeficiente de correlação (r) para produtividade de grãos (PROD) e porcentagem de grãos ardidos (GA.), envolvendo os tratamentos inoculados artificialmente com os fungos *Fusarium verticillioides* (F), *Stenocarpella maydis* (Sy) e *Stenocarpella macrospora* (Sm) e o tratamento testemunha (T), nas safras agrícolas de 2006/07 e 2007/08, em dois sistemas de cultivo (convencional e plantio direto)

GA	Convencional		Plantio Direto	
	Safra 2006/07	Safra 2007/08	Safra 2006/07	Safra 2007/08
	PROD	PROD	PROD	PROD
F	0,19 ^{NS}	- 0,03 ^{NS}	0,41 ^{NS}	0,06 ^{NS}
Sy	0,25 ^{NS}	0,11 ^{NS}	0,32 ^{NS}	0,01 ^{NS}
SM	0,47 ^{NS}	- 0,03 ^{NS}	0,48 ^{NS}	- 0,17 ^{NS}
T	0,15 ^{NS}	0,30 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,40 ^{NS}

Nota: NS - não significativo.

Por outro lado, os dados obtidos são semelhantes aos relatados por Thompson et al. (1971), que apontam a podridão de espiga como um fator redutor da qualidade e não tanto de quantidade de grãos produzidos. Estes autores, afirmam ainda, que a podridão de espigas não está relacionada com a podridão do colmo, a qual pode causar reduções no rendimento de grãos. Estes resultados permitem inferir que a infecção de grãos de milho a campo, causadas principalmente pelos fungos relacionados ao complexo grãos ardidos, dentre eles o *F. verticillioides*, a *S. maydis* e *S. macrospora*, não causaram perdas quantitativas na produção, mas muito provavelmente causaram perdas qualitativas, que serão motivos de desvalorização do produto e riscos para a utilização do produto na alimentação humana e de rebanhos.

Não houve diferença significativa entre os híbridos nos teores de ácido palmítico, esteárico e oléico. Porém, quando comparado os valores médios obtidos para os dois grupos de híbridos, considerados resistentes e susceptíveis, ao complexo de fungos causadores de grãos ardidos, para o ácido palmítico os valores foram superiores ao padrão, o mesmo fato não ocorreu para

os ácidos graxos esteárico e oléico, que apresentaram valores médios inferiores ao padrão.

Os dados obtidos com o ácido palmítico, chama a atenção, pois se trata de um tipo de gordura saturada, e como o milho é um dos alimentos tradicionais mais empregados para suprir as demandas energéticas das aves e animais, atualmente, há uma preocupação com a saúde alimentar humana. Neste caso, existe uma associação entre ingestão de gordura e os problemas de saúde, relacionados principalmente à gordura animal (gordura saturada), que é representada em grande parte pelo ácido palmítico (C16:0), sobre a concentração plasmática das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), e que é adotada por grande parte dos consumidores (KAZAMA, 2008).

Para o ácido graxo linoléico, houve diferença entre os híbridos, sendo o DKB 199, NB 7215, DKB 350 e 2 B 710 foram os que apresentaram maiores valores. Os dois primeiros híbridos são pertencentes ao grupo considerados resistente e os dois últimos ao grupo considerados susceptível. Para estes materiais, os teores de ácido linoléico ficaram acima do valor padrão que é 1,65 (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios para os teores de ácidos graxos em 10 híbridos avaliados na safra 2006/07 em sistema de plantio direto. Fazenda Palheta, Luminárias (MG), 2009.*

Híbridos	Palmitico	Eestreatico	Oleico	Linoleico
AG 6018	0,24 a	0,02 a	0,70 a	1,46 b
AG 8021	0,40 a	0,04 a	1,10 a	1,50 b
DKB 199	0,47 a	0,05 a	1,55 a	2,05 a
2 A 525	0,34 a	0,03 a	1,02 a	1,23 b
NB 7215	0,44 a	0,05 a	1,12 a	1,80 a
Média¹	0,38	0,03	1,10	1,61
DKB 350	0,40 a	0,06 a	1,21 a	1,74 a
DKB 390	0,36 a	0,03 a	0,79 a	1,11 b
P 30F53	0,58 a	0,05 a	1,45 a	1,24 b
2 B 710	0,59 a	0,04 a	1,17 a	1,70 a
NB 7210	0,35 a	0,04 a	0,85 a	1,23 b
Média²	0,46	0,04	1,09	1,40
Padrão³	0,35	0,06	1,26	1,65
Média Geral	0,41	0,04	1,09	1,50
C.V.	10,73	15,67	9,04	8,68

Notas: * Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott Knott, em nível de significância de 5%.

1 Média do grupo considerado resistente

2 Médias do grupo considerado susceptível

3 Padrão EMBRAPA/CNPISA

Existem trabalhos de pesquisa mostrando a associação do ácido graxo linoléico, com a atividade de enzimas responsáveis por conferir maior resistência das plantas a infecção por patógenos, que será discutido posteriormente. Na figura 1, estão apresentados os padrões eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor extraídas de grãos de milho secos produzidos na safra 2007/08. Vale salientar, que houve estabilidade nos padrões de banda das proteínas para todos os híbridos analisados.

Foi possível observar ainda uma concentração das frações protéicas de peso molecular entre 40 e 60 kDa, nos

híbridos considerados resistentes aos fungos causadores de grãos ardidos em milho. Vale salientar, que foi possível observar bandas específicas presentes nos híbridos considerados resistentes, mais especificamente de peso molecular de 50 kDa (Figura 1). Roveri José (2005) conseguiu identificar em linhagens de milho, concentrações de frações de LEA em genótipos resistentes a alta temperatura de secagem. Bezerra (1996) estudando a influência da seca em diferentes estádios da germinação, para o feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*), conseguiu identificar cultivares mais resistentes a condições de stress.

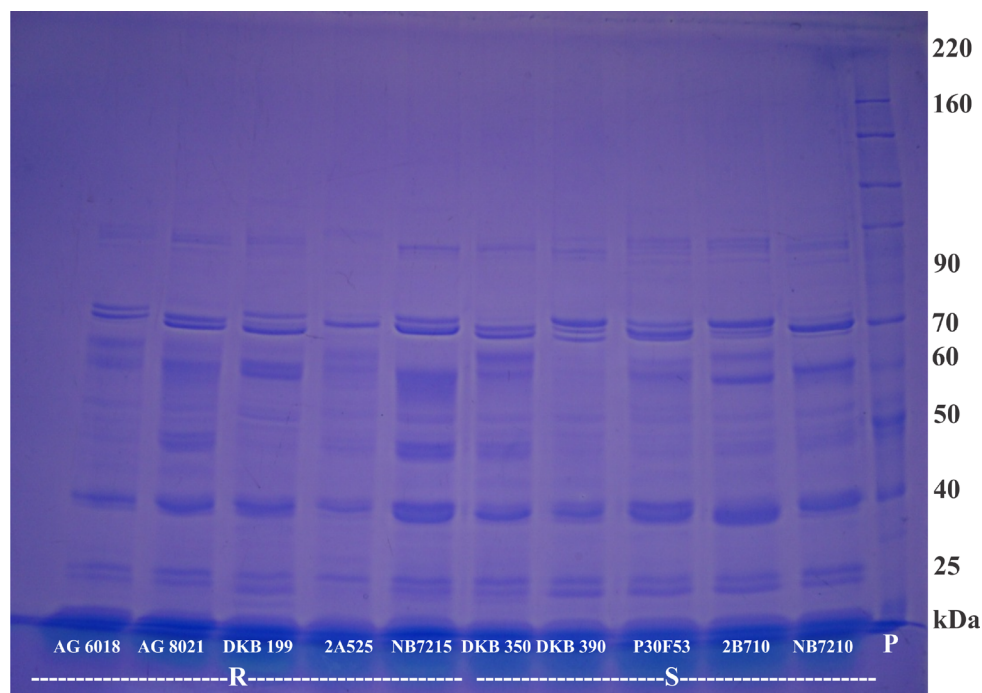


Figura 1. Padrão eletroforético das proteínas resistentes ao calor em híbridos de milho, considerados resistentes e susceptíveis aos fungos causadores de grãos ardidos, produzidas na safra 2007/08.

Nota: R: resistente, S: susceptível e P: padrão protéico.

Este mesmo cultivar, o Vita 5, tinha uma maior concentração de proteínas LEA's quando comparado com cultivares mais sensíveis. Com base nos dados apresentados, podemos inferir que existe uma associação, entre a resistência de híbridos de milho, a infecção por fungos causadores de podridões de espigas e a concentração de LEA proteínas. O gel revelado para a enzima lipoxigenase, presente nos híbridos de milho utilizados no presente trabalho, estão apresentados na figura 2. A atividade da LOX pode ser evidenciada pela presença de bandas de cor laranja, devido a uma reação com o - dionisidina, em gel de fundo branco, tratando-se de uma revelação positiva.

Foi possível constatar a atividade da enzima LOX para todos os híbridos estudados. Uma maior atividade da enzima

foi observada para os híbridos pertencentes ao grupo considerado resistente aos grãos ardidos, representados na figura 2, por R, quando comparado com o grupo considerado susceptível aos fungos, representados por S. Sendo que, ficou mais evidente a maior atividade da enzima para o híbrido NB 7215.

Estudos relacionados à influência de compostos químicos, atividade de enzimas específicas em grãos de milho sobre a resistência de genótipos associados aos patogênicos causadores de grãos ardidos são bastante escassos no Brasil. Porém, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América realizou vários experimentos para comprovar a resistência de algumas variedades de milho aos fungos causadores de grãos ardidos, devido aos diferentes níveis de ácidos graxos

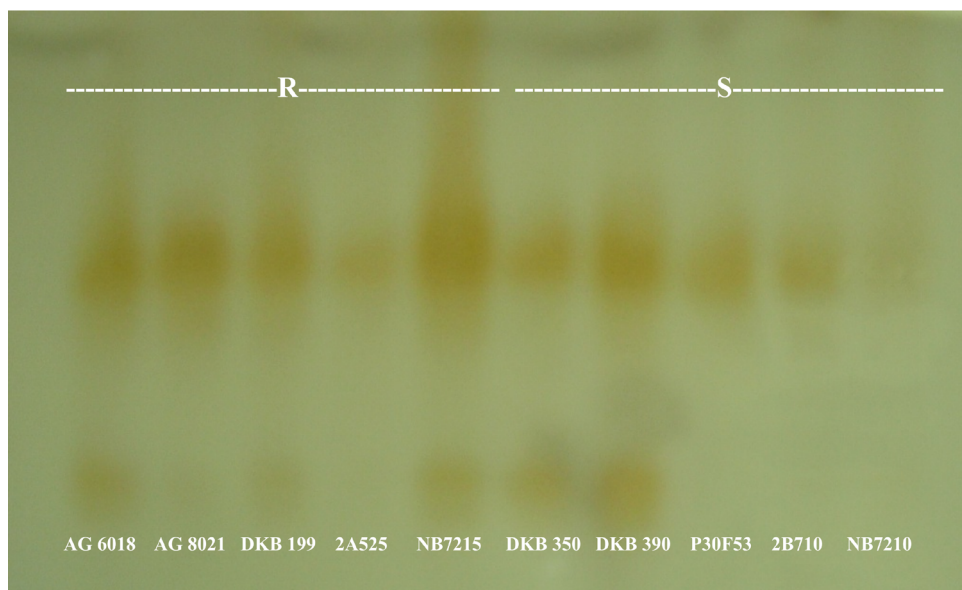


Figura 2. Padrão eletroforético da lipoxigenase em híbridos de milho, considerados resistentes e susceptíveis aos fungos causadores de grãos ardidos, produzidas na safra 2007/08

Nota: R: resistente e S: susceptível.

específicos, principalmente ácido linoleico associados a presença da enzima lipoxigenase (ZERINGUE et al., 1996).

Com base nos dados obtidos neste mesmo trabalho, o híbrido NB 7215 está no grupo que apresentou maiores teores de ácido linoléico, vindo a comprovar os resultados obtidos por Zeringue et al. (1996). Este mesmo autor, constatou diferença nas composições dos ácidos graxos extraídos através de vários genótipos de milho estudados, podendo explicar a susceptibilidade e resistência entre os genótipos com relação a infecção fúngica. O mecanismo funcionaria baseado nas produções de Hexanal e Octanal (aldeídos voláteis) pela liperoxidação do ácido linoléico promovido pela reação da enzima lipoxigenase. Esta enzima oxida o ácido linoléico e como resultado será a produção de aldeídos voláteis. Nestas investigações foi demonstrada a relação entre os níveis de aldeídos fungitóxicos na oxidação do ácido linoleico em diversos genótipos de milho, bem como a sua susceptibilidade e resistência

ao ataque fúngico. Estes aldeídos são tóxicos para os fungos, eliminando as hifas em desenvolvimento.

Portanto, podemos inferir que híbridos de milho com alto teor de ácido linoleico como ácido graxo principal e a presença de alta atividade da enzima lipoxigenase, indicam que estes genótipos possuem maior capacidade de resistirem ao ataque fúngico no final de ciclo da cultura, com conseqüente menor produção de grãos ardidos na colheita.

Conclusões

A significância do contraste entre os híbridos considerados resistentes vs. os híbridos considerados susceptíveis, para produtividade de grãos e porcentagem de grãos ardidos evidencia a existência de genótipos com maior resistência aos fungos *F. verticillioides*, *S. maydis* e *S. macrospora*. A produtividade de grãos e a porcentagem de grãos ardidos foram influenciadas pelo tipo de híbrido, pelas safras agrícolas e pelas

inoculações artificiais, sendo mais pronunciada no sistema de plantio direto. Não há associação entre a produtividade de grãos e porcentagem de grãos ardidos o que evidencia que as perdas provocadas pela incidência de grãos ardidos em milho não são de caráter quantitativo. Há diferenças nos teores de ácidos graxos linoléico entre os grupos de híbridos estudados, sendo maiores os valores obtidos no grupo de híbridos considerados resistente ao complexo

“grãos ardidos”. Com base na concentração de frações de proteínas resistentes ao calor foi possível verificar bandas específicas presentes nos híbridos considerados resistentes aos fungos causadores do complexo grãos ardido, mais especificamente de peso molecular de 50 kDa. Os perfis eletroforéticos para a lipoxigenase revelam uma maior intensidade de bandas para os híbridos resistentes aos fungos causadores de grãos ardidos em milho.

Referências

ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 2006. 627p.

BEZERRA, M. A. **Efeitos do déficit hídrico em vários estádios morfofisiológicos da germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) com diferentes graus de resistência à seca**. 1996. 56f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 11, 12 de abril de 1996. Estabelece critérios complementares para classificação do milho. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, n.72, 1996.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Safra 2008/2009**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/politica_agricola/safra/quadro7.xls>. Acesso em: 6 jan. 2009.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: versão Windows. Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2007. 648p.

DEL RIO, L. Maiz muerto en Honduras provocado pôr el complejo diplodia y fusarium. **Manejo Integrado de Plagas**, v.18, p.42-53, 1990.

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

FERREIRA, D. F. **SISVAR Sistemas de análises de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 4.3. Lavras: UFLA/DEX, 2002. *Software*.

FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. de. **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa- CNPMS, 1997. 80p. (Circular Técnica, 26).

FISCHER, K. S.; PALMER, A. F. E. Tropical maize. In: GOLSDWORTHY, P. R.; FISHER, N. M. (Ed.). **The physiology of tropical field crops**. New York: J. Wiley, 1984. p.213-248.

FLETT, B. C.; McLAREN, N. W. Optimum disease potential for evaluating resistance to *Stenocarpella maydis* ear rot corn hybrids. **Plant Disease**, v.78, p.587-589, 1994.

GUEVARA, M. J. P. **Enriquecimento de zooplâncton com óleo de peixe na larvicultura de pacu, *Piaractus mesopotamicus* e curimatá *Prochilodus lineatus***. 2003. 106 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v.22, p.475-476, 1973.

JULIATTI, F. C.; ZUZA, J. L. M. F.; SOUZA, P. A.; POLIZEL, A. C. Avaliação da incidência de grãos ardidos em genótipos de milho sob aplicação foliar de fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.23, n.2, p.34-41, 2007.

KAZAMA, R.; ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; SILVA D. C.; DUCATTI, T.; MATSUSHITA, M. Características quantitativas e qualitativas da carcaça de novilhas alimentadas com diferentes fontes energéticas em dietas à base de cascas de algodão e de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.2, p.350-357, 2008.

KIM, E. S.; KIM H.; PARK, R. D.; LEE, Y.; HAN, O. Dual positional specificity of wound-responsive lipoxygenase from maize seedlings. **Journal Plant Physiology**, v.159, n.11, p.1263-1265, 2002.

LUZ, W. C.; PEREIRA, L. R. Tratamento de sementes com fungicidas relacionando com o controle de patógenos e rendimento de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.4, p.537-541, 1998.

MARIO, J. L.; REIS, E. M. Método simples para diferenciar *Diplodia macrospora* de *D. maydis* em testes de patologia de sementes de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.3, p.670-672, 2001.

MARIO, J.L.; REIS, E.M. Quantificação do inóculo de *Diplodia macrospora* e de *D. maydis* em restos culturais, no ar e sua relação com a infecção em grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.143- 147, 2003.

MENEGAZZO, R.; GIACOMINI, V.; TRICHEZ, M. A.; LAZZARI, F. A. Amostragem e monitoramento de micotoxinas em matérias-primas para rações. In: SIMPÓSIO EM ARMAZENAGEM QUALITATIVA DE GRÃOS DO MERCOSUL, 2., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: SAG-Mercosul, 2001. p.161-171.

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

MUNKVOLD, G. P.; MCGEE, D. C.; CARLTON, W. M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, v.87, n.2, p.209-217, 1997.

PAES, M.C.D. **Manipulação da composição química do milho:** impacto na indústria e na saúde humana. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/milho/index.htm>. Acesso em: 15 maio 2011.

PINTO, N. F. J. A. **Patologia de sementes de milho.** Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1998. 44p. (Circular Técnica, 29).

PINTO, N. F. J. A. **Qualidade sanitária de grãos de milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 4p. (Comunicado Técnico, 30).

REID, L. M.; NICOL, R. W.; OUELLET, T.; SAVARD, M.; MILLER, J. D.; YOUNG, J. C.; ATEWART, D. W.; SCHAAFSMA, A. W. Interaction of *Fusarium graminearum* and *F. moniliforme* in maize ears: Disease Progress, Fungal Biomass, and Mycotoxin Accumulation. **Phytopathology**, v.89, n.11, p.1028-1037, 1999.

RIBEIRO, N. A.; CASA, R. T.; BOGO, A.; SANGOI, L.; MOREIRA, E. N.; WILLE, L. A. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.5, p.1003-1009, 2005.

ROVERI JOSÉ, S. C. B.; PINHO, E. V. de R. von.; PINHO, R. G. von.; SILVEIRA, C. M. de. Padrão eletroforético de proteínas resistentes ao calor em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.2, p.115-121, fev. 2005.

SANTOS, P. G.; JULIATTI, F. C.; BUIATTI, A. L.; HAMAWAKI, O. T. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos de milho em Uberlândia, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.5, p.597-602, 2002.

THOMPSON, D. L.; VILLENA, W. L.; MAXWELL, J. D. Correlation between *Diplodia* stalk and ear rot of corn. **Plant Disease Reporter**, v.55, p.158-162, 1971.

WISER, W. J.; KRAMER, H. H.; ULLSTRUP, A. J. Evaluating inbred lines of corn for resistance to *Diplodia* ear rot. **Agronomy Journal**, v.52, p.624-626, 1960.

WRIGHT, M. S.; GREENE-McDOWELLE, D. M.; ZERINGUE, H. J.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E. Effects of volatile aldehydes from *Aspergillus*-resistant varieties of corn on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin biosynthesis. **Toxicon**, v.38, n.9, p.1215-1223, 2000.

ZAMBOLIM, L.; CASA, R. T.; REIS, E. M. Sistema plantio direto e doenças em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.585-595, 2000.

ZERINGUE, H. J.; BROWN, R. L.; NEUCERE, J. N. Relationship between C6-C12 alkanal and alkenal volatile contents and resistance of maize genotypes to *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v.44, p.403-407, 1996.