REAÇÕES DE MILHO (*Zea mays* L.) A *Puccinia sorghi* Schw.
E PRESERVAÇÃO DE UREDOSPOROS DO PATÓGENO

WILSON FERREIRA DE OLIVEIRA

Orientador: Dr. Eric Balmer

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Janeiro, 1980

À minha

MÃE

e ao meu irmão,

ANTONIO,

D E D I C O.

A memória de meu

PAI,

O F E R E Ç O.

AGRADECIMENTOS

O autor expressa os mais sinceros agradecimentos:

Ao Professor Dr. ERIC BALMER, pela valiosa orientação, pelo apoio, amizade e sugestões para a realização deste trabalho.

Aos professores Drs. TASSO LEO KRUGNER e ARMANDO BERGAMIN FILHO, pela correção dos originais e valiosas sugestões.

Ao Professor Dr. PAULO DE CAMPOS TORRES DE CARVALHO, pela amizade e inestimável apoio oferecido.

Ao Professor YVO DE CARVALHO, pela sincera amizade, apoio e sugestões.

À Universidade Federal de Goiás, pela licença concedida para a realização do curso.

Ao PRODECA, pela bolsa de estudos concedida.

Aos colegas RILDO SARTORI COELHO, MARCELO DE MENEZES CRUZ, e WILMA ALVES FERRARI, pela colaboração.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	2
3. REVISÃO DE LITERATURA	3
Introdução	5
Coleta de esporos, obtenção do inóculo e métodos de inoculação	7
Fatores do ambiente influenciando o patógeno e relações patógeno-hospedeiro	8
Reações do hospedeiro, avaliação de materiais, fontes e natureza da resistência	10
Produção, preservação, germinação e poder infectivo de uredosporos	14
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1. Reações de linhagens, variedades e composto de milho a <i>P. sorghi</i> Schw., em condições de casa de vegetação	15
4.1.1. Hospedeiros	15
4.1.2. Inóculo	16
4.1.3. Inoculação	18
4.1.4. Avaliação	18
4.2. Reações de linhagens de milho e seus híbridos simples (F_1) a <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação.	19
4.3. Viabilidade de uredosporos de <i>P. sorghi</i> , mantidos em diferentes condições de armazenamento	21
5. RESULTADOS	24
5.1. Reações de linhagens, variedades e composto de milho a <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação	24
5.2. Reações de linhagens de milho e seus híbridos simples (F_1) a <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação	31
5.3. Viabilidade de uredosporos de <i>P. sorghi</i> , mantidos em diferentes condições de armazenamento	33
6. DISCUSSÃO	42
6.1. Reações de linhagens, composto e variedades de milho a <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação	42
6.2. Reações de linhagens de milho e seus híbridos simples (F_1) a <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação	45

6.3. Viabilidade de uredosporos de <i>P. sorghi</i> mantidos em diferentes condições de armazenamento	47
7. CONCLUSÕES	50
8. SUMMARY	51
9. LITERATURA CITADA	52

TABELAS

	<u>Página</u>
Tabela 1. Frequência, em porcentagem, para os tipos de reações a <i>P. sorghi</i> em linhagens, variedades e composto de milho, em condições de casa de vegetação. (Experimento I)	27
Tabela 2. Frequência, em porcentagem, para os tipos de reações a <i>P. sorghi</i> em linhagens, variedades e composto de milho, em condições de casa de vegetação. (Experimento II)	28
Tabela 3. Frequência, em porcentagem média, para os tipos de reações a <i>P. sorghi</i> em linhagens, variedades e composto de milho, em condições de casa de vegetação, observados nos experimentos I e II	29
Tabela 4. Frequência, em porcentagem, para os tipos de reações em linhagens e híbridos simples de milho a uma cultura monopustular de <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação	31
Tabela 5. Porcentagem média de germinação de uredosporos de <i>P. sorghi</i> preservados por diferentes períodos a temperatura de 5 a 10°C e a umidade relativa de 50%, e a temperatura ambiente variando de 23 a 29°C, aproximadamente	35
Tabela 6. Níveis de infecção em "seedlings" de milho da linhagem 929 - B-5, por uredosporos de <i>P. sorghi</i> armazenados por diferentes períodos a temperatura de 5 a 10°C e umidade relativa de 50,0% e a temperatura ambiente, variando de 23 a 29°C, aproximadamente.	37

FIGURAS

	<u>Página</u>
Figura 1. Aparelho coletor de esporos, "separador tipo Ciclone", de TERVET <u>et alii</u> (1951), modificado	17
Figura 2. Reações de resistência e suscetibilidade em milho a <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação, sendo 0 (zero), alta resistência; 2 (dois), resistência moderada; 3 (três), suscetibilidade moderada; 4 (quatro), alta suscetibilidade e T, testemunha, plantas suscetíveis não inoculadas	25
Figura 3. Reações apresentadas pelas linhagens CA - 26-2 (resistência moderada, à esquerda), 929 - B-5 (alta suscetibilidade; à direita) e híbrido CA - 26-2 x 929 - B-5 (moderada resistência, em baixo), a uma cultura monopustular de <i>P. sorghi</i> , em condições de casa de vegetação.	32
Figura 4. Germinação de uredosporos de <i>P. sorghi</i> , coletados no campo e casa de vegetação, armazenados sob diferentes condições	34
Figura 5. Níveis de infecção em "seedlings" da linhagem 929 -B-5 com esporos armazenados por 60 dias, sendo A e B infecção de esporos coletados em casa de vegetação e preservados, respectivamente, a temperatura de 5 a 10°C e ambiente, C e D infecção de esporos coletados no campo e preservados, respectivamente, a temperatura de 5 a 10°C e ambiente	38
Figura 6. Níveis de infecção em "seedlings" da linhagem 929 -B-5 com esporos oriundos de casa de vegetação aos 100 dias de armazenamento, sendo A, infecção para esporos mantidos em temperatura de 5 a 10°C e B, infecção para esporos armazenados a temperatura ambiente.	39

1. RESUMO

As reações de linhagens, composto e variedades de milho (*Zea mays* L.) a uma mistura de isolados de *Puccinia sorghi* Schw. foram avaliadas em "seedlings", em condições de casa de vegetação. As reações observadas foram lesões necróticas e cloróticas para os níveis mais elevados de resistência, e desenvolvimento de pústulas, com tamanhos variados que refletem estados de resistência moderada, suscetibilidade moderada e alta suscetibilidade.

Os materiais testados revelaram diferentes níveis de resistência e suscetibilidade ao patógeno.

Híbridos, F_1 , resultantes do cruzamento entre linhagens resistentes e suscetíveis a uma cultura monopustular de *P. sorghi*, revelaram que a resistência em "seedlings", em condições de casa de vegetação, foi dominante em relação à suscetibilidade.

A viabilidade de uredosporos de *P. sorghi* foi influenciada pelas condições de armazenamento. A germinação e poder infectivo diminuíram consideravelmente para esporos armazenados em condições ambiente, enquanto que para esporos armazenados a temperatura de 5 a 10°C e umidade relativa de 50% a germinação e poder infectivo se mantiveram elevados por um período de 100 dias de armazenamento.

2. INTRODUÇÃO

Várias são as doenças que afetam o milho, destacando-se entre elas as ferrugens que são causadas por três diferentes patógenos. O mais comum entre eles é *Puccinia sorghi* Schw. que está presente em todas as partes do mundo onde é cultivada esta gramínea Arthur (1924), citado por BULOW (1966). Causa poucos danos, a não ser em variedades suscetíveis em condições favoráveis ao fungo. Nos Estados Unidos, pode se tornar um grave problema, causando a seca das folhas e perdas anuais na colheita de grãos BULOW (1966), KIM e BREWBAKER (1976) e MARTINEZ (1977).

Pouca atenção vinha sendo dada a este fungo devido aos poucos danos causados (STAKMAN et alii, 1928). Entretanto, há mais de 20 anos, passou a ser considerado, pelos americanos do Norte, como um perigo em potencial ao "corn belt" (LeROUX e DICKSON, 1957). Mesmo com a ocorrência de algumas epifitias em milho doce e dentado, ainda não era considerada doença importante até a década de 50 (RUSSEL e HOOKER, 1959), apesar de que LeROUX et alii (1954) já considerava a ferrugem comum do milho uma ameaça para esta cultura desde aquela época. Há muito tempo, a preocupação com a doença vem sendo atestada pelos inúmeros trabalhos a respeito.

Na Inglaterra, segundo MAHINDAPALA (1978), no momento, *P. sorghi* não é um dos principais problemas do milho, mas com o incremento da cultura, um severo ataque não está afastado.

No Brasil, a ferrugem comum é uma doença bastante difundida. Os prejuízos causados pelo patógeno à cultura do milho ainda não foram devidamente analisados para as variedades atuais. Segundo BULOW (1967), em cultivares suscetíveis as perdas podem atingir níveis superiores a 35,0%.

As mudanças frequentes do material genético, através do uso de híbridos, ou uma redução gradual da diversidade do material para melhoramento podem alterar o equilíbrio patógeno-hospedeiro, favorecendo o desenvolvimento da doença (RUSSEL e HOOKER, 1959).

Sabe-se que o fungo *P. sorghi* possui grande variabilidade (MAINS et alii, 1924 e MAINS, 1931). No Brasil, com o auxílio de linhagens diferenciais americanas e do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro Sul-IPEACS, já foram evidenciadas 13 raças (BULOW, 1967).

O controle do agente da ferrugem comum do milho pode ser feito através de produtos químicos, porém o uso de variedades resistentes é a maneira mais econômica e racional de se controlar o patógeno.

Diversas fontes de resistência já foram obtidas nos Estados Unidos, Austrália, África, Turquia, Guatemala, Uruguai, Yugoslávia e outros países (HOOKER, 1962). Conhecida uma determinada fonte de resistência, ela poderá ser utilizada em programas de melhoramento MAINS, (1931), HOOKER e RUSSEL, (1959), RUSSEL e HOOKER, (1959), ou mesmo ser utilizada como linha - gem diferencial para determinação de raças locais.

Nos Estados Unidos, já é prática bastante difundida o uso de materiais possuidores de resistência, visando o controle da ferrugem.

Raros são os trabalhos sobre a preservação de uredosporos de *P. sorghi*. No Brasil, na literatura consultada, não foi encontrada nenhuma referência sobre o assunto. Como um parasita obrigado, em trabalhos mais demorados com este fungo, existe a necessidade de se mantê-lo em plantas hospedeiras. Esta é uma operação que, além de trabalhosa, pode propiciar contaminações, não estando afastada a possibilidade da ocorrência de mutações no patógeno e a consequente mistura de biótipos durante as passagens sucessivas pelos hospedeiros. O conhecimento da longevidade dos uredosporos armazenados em condições artificiais poderá fornecer meios para minimizar ou mesmo eliminar estes problemas.

Diante da importância do milho para o país, da ocorrência da ferrugem comum do milho de maneira generalizada e da escassez de informações a respeito da longevidade de uredosporos de *P. sorghi*, o presente trabalho teve por objetivos principais: a) estudar, sob condições de casa de

vegetação, as reações a *P. sorghi* em linhagens, variedades e composto de milho, visando detectar possíveis fontes de resistência ao patógeno; b) estudar, em condições de casa de vegetação, as reações a *P. sorghi* de híbridos simples, (F_1), originados do cruzamento de linhagens resistentes com suscetíveis; e c) estudar a viabilidade de uredosporos de *P. sorghi*, armazenados sob diferentes condições de temperatura e umidade relativa.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Introdução

As ferrugens que ocorrem sobre o milho são doenças bastante difundidas pelo mundo.

BULOW (1966) e HOU et alii (1978), relataram que o milho (*Zea mays* L.) é atacado por três fungos causadores de ferrugem, sendo elas: *Puccinia sorghi* Schw., que causa a ferrugem comum do milho, *Puccinia polysora* Underw., agente causal da ferrugem do sul ou meridional, a *Physopella zae* Mains, responsável pela ferrugem tropical.

P. sorghi ocorre em qualquer parte onde haja cultura do milho SCHIEBER et alii (1964) e Arthur (1924), citado por BULOW (1966). STAKMAN e HARRAR (1957) afirmam que este fungo ocorre nas Américas nas culturas de milho situadas em altitudes inferiores a 1.500 m. No México, este fungo tem sua ocorrência limitada pela altitude, sendo encontrado a altitudes elevadas (SCHIEBER et alii, 1964).

No Brasil, a ferrugem do milho que ocorre com mais frequência é a ferrugem comum, tendo já sido constatada em várias unidades da federação: São Paulo e Paraíba (VIEGAS, 1945); São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Goiás e Distrito Federal (BULOW, 1967). No Nordeste, por informação pessoal de COELHO, a doença já se encontra bastante difundida, especialmente no Estado de Pernambuco.

Quanto à origem do patógeno, DUGAR (1909) relata que a ferrugem comum do milho é considerada como originária desta cultura nas Américas.

A identificação da ferrugem comum do milho é bastante simples. Segundo HOW et alii (1978), os sintomas, também descritos por Ullstrup e Dickson, se caracterizam pela presença de pústulas de cor castanha, de formato circular a alongado, chamadas urédias, que podem ou não coalescerem. Elas se formam em ambas as faces das folhas. A infecção em "seedlings" pode causar murcha. Com o amadurecimento do milho, as pústulas se tornam castanho-escuras, devido à formação de teliosporos negros. As pústulas podem aparecer em qualquer parte da planta acima do solo, porém são mais comuns nas folhas.

Além do milho, *P. sorghi* coloniza o teosinto (*Euchlaena mexicana*) (SCHIEBER et alii, 1964). Como uredinia perfeita, heterótica de ciclo completo, produz uredosporos e teliosporos no milho, teosinto e capim guatemala (*Tripsacum dasyneuron*). As formas picniais e aeciais ocorrem sobre *Oxalis* sp., crescendo nas proximidades de milho no campo, ALLEN (1933 e 1934), VIEGAS (1945) e BULOW (1966). Este hospedeiro intermediário, segundo MAHINDAPALA (1978), deve ter papel importante em epidemiologia, pois nas Ilhas Britânicas é bastante difundido na época da semeadura. Quanto aos capins, o autor não lhes atribui muita importância.

As plantas de milho, como hospedeiras de *P. sorghi*, variam quanto à suscetibilidade ao patógeno. Em ordem decrescente de suscetibilidade, WEBER (1922) relata os seguintes hospedeiros: milho doce, amiláceo, dentado, tunicado e pipoca.

A ocorrência da ferrugem causada por *P. sorghi*, uma doença amplamente difundida e de extensão variável, depende das condições climáticas e dos genótipos das plantas hospedeiras, STAKMAN et alii (1928), ULLSTRUP (1951), RUSSEL (1965), MEDERIK e SACKSTON (1972), KIM e BREWBAKER (1976 e 1977) e MARTINEZ (1977).

O controle da ferrugem comum do milho é possível através do uso de produtos químicos, porém esta medida de controle, salvo raras exceções, é antieconômica. O uso de variedades resistentes é a melhor maneira de controle para a doença, HOOKER e RUSSEL (1959) e RUSSEL e HOOKER (1959).

Coleta de esporos, obtenção do inóculo e métodos de inoculação

Para a coleta de esporos, TERVET et alii (1951) sugerem o uso do aparelho "separador tipo ciclone", o qual pode ser utilizado com facilidade para coletar partículas de até 4 μ com relativa pureza e rapidez. Pode inclusive, segundo TERVET e CASSEL (1951), ser utilizado na inoculação de esporos, pois é útil tanto para a coleta como para a aplicação.

Após o uso da inoculação por injeção, em 1896, feita pela vez primeira por Hitcock e Norton, este método, com pequenas mudanças, passou a ser usado com relativa frequência para inocular patógenos causadores de ferrugens no milho e trigo. Este método se revelou superior ao convencional (por aspersão), nos experimentos por eles realizados, quer mantidas as plantas em câmara úmida ou condições ordinárias de casa de vegetação ZENHER e HUMPREY (1929).

Entretanto, WATERS (1928) aponta que para inoculação de ferrugem em condições de casa de vegetação, quando se deseja uma uniforme infecção para estudos comparativos, o melhor método é o indicado por MELHUS (1912), o qual consiste na atomização das folhas por meio de atomizador "De Vilbis" número 16 e posterior incubação em câmara úmida por 48:00 horas, a uma temperatura de 17 a 21°C. MAINS (1926 e 1931) e HOOKER e SAXENA (1967) também sugerem a aspersão como o melhor método para inoculação de *P. sorghi* em condições de casa de vegetação.

BULOW (1967), após estudos comparativos entre os métodos de inoculação de *P. sorghi* em "seedlings" de milho em casa de vegetação, concluiu que dentre os métodos testados: aspersão, gotejamento da suspensão entre as folhas ainda em formação e deposição no cartucho, o último foi o melhor.

Segundo ZAMBOLIM e CHAVES (1974), a maioria dos autores preferem a inoculação por atomização e incubação posterior em câmara úmida para patógenos causadores de ferrugens

Baseado em dados experimentais, MAHINDAPALA (1978) relata que o aumento da concentração de uredosporos até 5×10^4 esporos/ml aumenta o número de urédias. Concentrações superiores não surtem efeito. Esta também é a opinião de DAVISON e VAUGHAN (1963). Por outro lado, ALLEN (1955)

afirma que, dentre os diferentes fatores, a concentração de uredosporos é o que mais influencia na velocidade de germinação dos esporos.

Com referência a concentração de inóculo de *P. sorghi* e idade das plantas para inoculação, BULOW (1967) usou uma concentração $3,2 \times 10^3$ esporos/ml em plantas com oito dias de idade, enquanto que MAHINDAPALA (1978), trabalhando com esse mesmo patógeno, utilizou uma concentração de 5×10^3 uredosporos/ml em "seedlings" de milho com três semanas de idade. Por outro lado, MAINS (1926 e 1931), fazendo menção ao estágio de desenvolvimento das plantas de milho, sugere que estas devem ser inoculadas ao atingirem o estágio de duas a quatro folhas, com posterior incubação em câmara úmida.

O uso de dispersantes, segundo ZAMBOLIM e CHAVES (1974), é de recomendação geral para todas as ferrugens, a fim de evitar aglomeração dos uredosporos. MAHINDAPALA (1978) usou, satisfatoriamente em trabalhos realizados com *P. sorghi*, o Tween 80, na proporção de 0,1 ml do dispersante para 50,0 ml de suspensão, ao passo que BULOW (1967) observou prejuízos na infecção e clorose nas plantas inoculadas, ao utilizar Tryton X-114 na dosagem de 8 gotas por litro de suspensão.

Fatores do ambiente influenciando o patógeno e relações patógeno-hospedeiro.

Fatores do ambiente que influenciam o hospedeiro e/ou o patógeno devem ser levados em conta pelos fitopatologistas. Tem sido observado que nem só a concentração do inóculo é importante na severidade da ferrugem, mas também fatores do ambiente tais como: temperatura, umidade, luminosidade, LEVINE (1928) e SYANAMANDA (1958 e 1959).

Baseado em dados experimentais, WEBER (1922) afirma que as temperaturas mínima, ótima e máxima para a germinação de uredosporos de *P. sorghi*, são respectivamente 4°, 17° e 32°C. MELHUS (1912) sugere 18°C como sendo a temperatura ótima para a germinação dos uredosporos. De acordo com BULOW (1967), o poder germinativo dos uredosporos decresce rapidamente a temperaturas mais elevadas, podendo estas inclusive ser um fator limitante em testes de resistência a *P. sorghi*. No verão, segundo MAINS (1917) e WATERS (1928), devido às altas temperaturas é quase impossível infectar as plantas suscetíveis com sucesso.

Na tentativa de verificar a influência da temperatura na germinação de uredosporos de *P. sorghi* em folhas de milho e ágar, MAHINDAPALA (1978) observou que na faixa de 5 a 25°C a influência é a mesma.

As temperaturas para infecção por *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação, segundo WEBER (1922), foram mais ou menos iguais às aquelas para germinação, situando-se a ótima em torno de 18°C. MAHINDAPALA (1978) sugere a temperatura de 15°C como sendo a ideal para a formação da estrutura da infecção, sendo necessário, um período de 3 a 4 dias para iniciar a infecção.

De acordo com WEBER (1922), a maior velocidade de colonização para *P. sorghi* ocorre a 20°C. Em baixas temperaturas o crescimento é lento. Temperaturas amenas e alta umidade relativa favorecem o desenvolvimento da ferrugem comum do milho, WEBER (1922), WATERS (1928) e MAHINDAPALA (1978).

Vários patógenos causadores de ferrugem tem sido estudados por SINKIN e WHEELER (1974), quanto à importância da temperatura no tempo de geração, tamanho das pústulas e número de uredosporos produzidos. MAHINDAPALA (1978) encontrou que o menor tempo de geração para *P. sorghi* foi de cinco dias às temperaturas de 25, 28 e 30°C.

Quanto ao efeito da luz, esta parece exercer influência não sobre o patógeno, mas sim sobre o hospedeiro (MAINS, 1917 e WATERS, 1928).

Com relação à influência de fatores do ambiente na interação patógeno-hospedeiro, a determinação de raças fisiológicas é feita melhor em determinada época do ano, quando então o desenvolvimento de ferrugem nas plantas resistentes é inexpressível, permitindo assim uma melhor diferenciação das suscetíveis (MAINS et alii, 1924 e MAINS, 1931).

Trabalhando com *P. sorghi* em milho, SYANAMANDA (1958 e 1959) concluiu que a expressão da resistência pode ser alterada em função das condições ambientais, pois a relação patógeno-hospedeiro pode ser afetada por estas condições, tanto antes como depois da inoculação, sendo a temperatura e a luz os fatores que induzem respostas mais rápidas.

HOOKE e LeROUX (1957) observaram que os resultados de rea-ções de milho a *P. sorghi* foram significativamente alterados pelo ambiente.

Reações do hospedeiro, avaliação de materiais, fontes e natureza da resistência

Com respeito à avaliação de reações de milho a *P. sorghi*, WEBER (1922) a fez nas quartas e quintas folhas. MAINS (1931) avaliou os resultados 10 a 14 dias após a inoculação, enquanto que BULOW (1967) fez as avaliações do décimo ao décimo quinto dia após a aplicação do inóculo.

Como critério de avaliação, tem sido utilizado pelos diferentes autores a escala diferencial qualitativa de Stakman (1915), citado por BULOW (1966) e STAKMAN e HARRAR (1957), que é universalmente aceita para as ferrugens de cereais. Segundo HOOKER (1967), dentro do relacionamento patógeno-hospedeiro, as plantas reagem às ferrugens do gênero *Puccinia* em diferentes graus de suscetibilidade e resistência. A classificação de tipos e modos de resistência é um tanto arbitrária. Variações no grau de resistência ou suscetibilidade de milho a *P. sorghi*, segundo este mesmo autor, aparecem como diferentes tipos de infecção ou tipos de reações.

VAN DYKE e HOOKER (1969), trabalhando com três linhagens de milho, constataram um tipo não usual de reação de resistência a *P. sorghi*, o qual consiste de flecks de resistência nas extremidades das folhas e desenvolvimento de pústulas nas regiões basais das mesmas. A este tipo foi dado o nome de reação tipo Z. Os autores sugerem que isto se deva à idade de maturação de tecido foliar na época da inoculação. As reações mais resistentes, segundo os mesmos autores, são as cloroses, mas, ocasionalmente, pequenas pústulas podem se desenvolver. Em alguns casos, ocorrem "flecks" necróticos e um crescimento muito limitado do fungo.

A expressão fenotípica (tipo de pústulas) da interação patógeno-hospedeiro em ferrugem do milho, é, segundo RUSSEL e HOOKER (1959), o resultado da expressão de ambos os gens do patógeno e hospedeiro, dentro dos limites impostos pelo ambiente.

Existem duas formas de manifestação da resistência em milho a *P. sorghi*, sendo elas a resistência protoplasmática e a resistência de campo.

De acordo com HOOKER et alii (1955) e HOOKER e LeROUX (1957), é comum observar-se que muitas variedades de milho permanecem relativamen

te isentas de ferrugem, quando expostas naturalmente a *P. sorghi* no campo . Por outro lado, apenas parte destas variedades tem expressado resistência protoplasmática ("flecks" cloróticos ou necróticos) em "seedlings". Entretanto, variedades expressando esse tipo de resistência como "seedlings", a tem confirmado como plantas adultas.

Com referência à avaliação da reação de diferentes materiais a *P. sorghi*, os estudos com milho são bastante antigos, datando de 1918, em Lafayette, Ind., E.U.A. pela "Division of Cereal Crops and Diseases". Das diversas linhagens testadas para reação a ferrugem comum do milho, foram encontradas linhagens altamente resistentes à cultura do patógeno utilizado. Estudos futuros revelaram a existência de várias raças fisiológicas de *P. sorghi*, com as quais algumas dessas linhagens resistentes diferiram consideravelmente em testes de "seedlings" em casa de vegetação, MAINS et alii, 1924 e MAINS, 1931).

Através de ensaios com linhagens de milho, STAKMAN et alii (1928) e STAKMAN e HARRAR (1957) conseguiram selecionar plantas altamente resistentes, altamente suscetíveis e intermediárias aos dois extremos , sendo este o primeiro passo para identificação de raças fisiológicas.

Baseados em testes realizados em "seedlings", KRAMER e ULLS - TRUP (1959) relataram que a frequência de gens para resistência em milho é baixa, pois das variedades testadas, poucas apresentaram plântulas resistentes, a maioria não apresentou nenhuma.

Em testes de casa de vegetação com cultura monopustular e com uma série de simples pústulas, HOOKER e RUSSEL (1962) conseguiram identificar em seis linhagens de milho reações bem definidas: resistência, intermediárias a baixa suscetibilidade. Não houve caso de alta suscetibilidade .

Diferentes pesquisadores preocupados com o problema da ferrugem comum do milho, testaram um grande número de plantas de diferentes genótipos, tentando verificar e descobrir fontes de resistência.

Segundo HOOKER (1962), várias fontes de resistência têm sido descobertas, sendo as reações de resistência manifestadas em forma de lesões necróticas ou "flecks" cloróticos ou ainda uma mistura de lesões necróticas e pequenas pústulas nos "seedlings" de milho inoculados. PAYAK et alii (1974) conseguiram ratificar a existência de resistência monogênica

em linhagens testadas, porém se mostraram suscetíveis a *Helminthosporium turcicum*. Todas as fontes de germoplasma utilizadas por KIM e BREWBAKER (1976) se mostraram suscetíveis a *P. sorghi*, exceto quando existia fonte de resistência monogênica Rp. Algumas linhagens testadas apresentaram resistência horizontal. HOOKER e LeROUX (1957), testando 120 linhagens, em Wisconsin, com uma mistura de inóculo, observaram que apenas uma se mostrou resistente.

Após ter identificado linhagens de milho altamente resistentes a *P. sorghi*, MAINS (1926) concluiu que a resistência era homozigota e que era controlada por um fator mendeliano.

LeROUX et alii (1954), em condições de casa de vegetação, testaram o comportamento de linhagens de milho a *P. sorghi*, observando reações de resistência ("flecks" cloróticos ou necróticos) e suscetibilidade (pústulas desenvolvidas e esporulando). Concluíram que a resistência era devido a 8 ou mais pares de gens, constatando ainda que somente uma linhagem, oriunda do Peru, se mostrou imune a todos os isolados do patógeno testados.

Segundo HOOKER e LeROUX (1957) e HOOKER (1955), a resistência em milho a *P. sorghi*, deve ser devido a fatores dominantes ou recessivos.

HOOKER e SAXENA (1971), após estudos experimentais, confirmaram ser a resistência devido a um simples gene. Podendo ocorrer uma reversão da dominância, revelando-se dominante para uma e recessivo para outra raça do patógeno.

A resistência monogênica no milho, quando presente, parece dar reação tipo "flecks". Seu uso deve ser temporário para evitar o aparecimento de novas raças de *P. sorghi*. A resistência horizontal não é convincentemente distinguida em "seedlings". As plantas que a possuem são comumente chamadas de "plantas adultas resistentes". Este tipo de resistência não é racionalmente específico e parece ter alta herdabilidade (KIM e BREWBAKER, 1976 e 1977).

Segundo MAINS (1931), os estudos de herança da resistência em milho foram iniciados em 1924. Ela tem sido estudada em cruzamentos de milhos resistentes com suscetíveis. Os dados obtidos em populações F_2 têm, na maioria dos casos, revelado uma segregação de 3 plantas resistentes para

suscetível, indicando, assim, que a resistência do material testado depende de um simples gene dominante MAINS (1928), MAINS (1931) e RUSSEL e HOOKER (1959).

HOOKER e RUSSEL (1959), usando culturas individuais ou misturas de isolados de *P. sorghi*, testaram populações F_1 e F_2 e retrocruzamentos. Baseados nestes estudos, relataram que a resistência do milho ao referido patógeno é dominante em relação à reação de suscetibilidade, e que os mais altos níveis de resistência são dominantes em relação aos mais baixos. Sugeriram, ainda, que os gens para resistência são em número de seis e pertencem a uma série alélica, tendo sido designados por Rp^1 , Rp^2 , Rp^3 , Rp^4 , Rp^5 e Rp^6 . Esta também é a opinião de HAGAN e HOOKER (1965).

Em casa de vegetação, usando linhagens e híbridos F_1 de milho, HOOKER (1963) constatou que, do total, algumas linhagens se mostraram resistentes, e que, em cruzamentos simples entre linhagens resistentes e suscetíveis, a resistência para *P. sorghi* foi dominante. Resistência essa manifestada na forma de manchas cloróticas ou necróticas, com pequenas pústulas se formando ocasionalmente.

HOOKER e SAXENA (1967) demonstraram a herança da resistência do milho a *P. sorghi*, trabalhando em condições de casa de vegetação, com populações F_1 , F_2 e F_3 dos cruzamentos de plantas resistentes com suscetíveis. Os resultados mostraram ser a reação de resistência representada por "flecks" necróticos e pequenas pústulas circundadas por halo clorótico.

No Brasil, existem poucos relatos a respeito da ferrugem do milho. BULOW (1966 e 1967) procurou fazer uma revisão sobre ferrugens que atacam o milho, desenvolvendo também a parte experimental com *P. sorghi*. Demonstrou que uma linhagem americana, considerada resistente lá, foi suscetível à maioria das raças aqui. Isto demonstra a necessidade da criação de linhagens diferenciadoras para as condições brasileiras. CHESTER (1946) sugere, inclusive, que as variedades diferenciais para ferrugem de cereais devem ser diminuídas, e que estas sejam criadas em função das condições climáticas e aumentadas para identificação de biótipos locais.

Produção, preservação, germinação e poder infectivo de uredosporos

Segundo MAHINDAPALA (1978), as urédias são capazes de produzir uredosporos por um período relativamente longo, o que pode ter profundo efeito no desenvolvimento da doença no campo.

De um modo geral, para os diferentes agentes causais de ferrugens, a preservação de uredosporos tem sido feita em folhas infectadas, mantidas em refrigerador MANEVAL (1924), Forbes (1939) e Ferraz (1969), citados por ZAMBOLIM e CHAVES (1974), através de liofilização de uredosporos SHARP e SMITH (1952) e SHARP e SMITH (1957) e da preservação de esporos mantidos "in vitro" em diferentes condições de temperatura e umidade relativa, LOEBERING et alii (1961), SHEIN e ROTEN (1965) e KILPATRICK e MOBEY (1967). Em condições de baixa temperatura e umidade relativa de 50%, segundo Kirali et alii (1970), Oliveira (1970), citados por ZAMBOLIM e CHAVES (1974), os uredosporos se conservam melhor. Estas afirmações, já em 1971, eram experimentalmente confirmadas aqui no Brasil por ROMEIRO e CHAVES (1971) para *Hemileia vastatrix*.

Para *P. sorghi*, tem sido demonstrado que a longevidade dos seus uredosporos é influenciada pelos diferentes métodos de preservação MANEVAL (1924) e SHARP e SMITH (1957). Mantidos em câmara fria, segundo MANEVAL (1924), os uredosporos de *P. sorghi* perdem o poder germinativo gradualmente, embora em certos casos se mantenham com baixa viabilidade até os 180 dias de armazenamento. De acordo com SHARP e SMITH (1957), um declínio significativo também foi verificado em uredosporos preservados por liofilização.

A avaliação do poder germinativo, segundo ALLEN (1955), FORSYTH (1955), YARWOOD (1956) e MAHINDAPALA (1978), foi feita tomando-se por base a porcentagem de esporos germinados, cujo comprimento do tubo germinativo excedeu o diâmetro do uredosporo que lhe deu origem.

O poder de infecção de uredosporos de *Puccinia helianthi* foi avaliado por SACKSTON (1960), baseando-se na porcentagem de tecido infectado em relação à superfície de folha inoculada. No caso de milho, MANEVAL (1924) também avaliou o poder infectivo de uredosporos de *P. sorghi*, usando como critério a porcentagem de tecido infectado da folha.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Reações de linhagens, variedades e composto de milho a *P. sorghi* Schw., em condições de casa de vegetação.

4.1.1. Hospedeiros

Para os estudos de reações a uma cultura mista de *P. sorghi* foram utilizados "seedlings" de linhagens, variedades e composto de milho

As linhagens CA e CB utilizadas, mencionadas a seguir, foram:
CA - 12-1, CA - 13-3, CA - 16-2, CA - 17-1, CA - 18-1, CA - 23-1, CA - 23-4,
CA - 24-3, CA - 26-1, CA - 26-3, CA - 26-4, CA - 29-1, CA - 33-2, CA - 35-2,
CB - 4-1, CB - 7-4, CB - 8-2, CB - 11-2, CB - 13-4, CB - 14-1, CB - 14-2 ,
CB - 16-1, CB - 17-1, CB - 18-1, CB - 18-2, CB - 19-1, CB - 24-2 e CB - 24-4

As linhagens CA e CB, no estágio S_6 de autofecundação são resultantes de seleções individuais para resistência a *Helminthosporium turcicum*, respectivamente nos compostos "A" e "B" do Instituto de Genética da ESALQ.

As linhagens 929 - B, irmãs, utilizadas foram: 929 - B-1, 929 - B-3, 929 - B-5, 929 - B-6 e 929 - B-7.

Estas linhagens são resultantes de seleção feita no composto B para suscetibilidade a *H. turcicum*.

As linhagens A632HT, originária dos Estados Unidos, resistente a *H. turcicum*, e A - 1-5-1, originária do composto "A", juntamente com o Composto Arquitetura LG, variedades Centralmex, Piranão e Dentado Composto, também foram incluídos no estudo.

As plantas foram obtidas em vasos de alumínio com dimensões de 16,0 x 34,0 cm, em condições de casa de vegetação.

Plantou-se dez sementes por vaso, escolhidas entre as melhores, sendo feitas regas diariamente ou quando necessárias. Para propiciar um bom estágio de desenvolvimento, fez-se duas adubações, uma quatro dias antes, outra quatro dias depois da inoculação. Em cada adubação, foram aplicados 0,8 a 0,9 g da fórmula 15-15-30, por vaso.

Oito a dez dias após o plantio, foi feito o desbaste, deixando-se de seis a oito plantas por vaso, procurando-se eliminar as plantas menos desenvolvidas. Nos vasos onde a germinação foi igual ou inferior a seis, todas foram mantidas.

Em vista dos constantes ataques de pragas, como a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), vaquinha (*Diabrotica speciosa*) e tripes, eram feitas inspecções diárias, e ao constatar-se a ocorrência de uma delas eram feitas pulverizações com Lorsban, na dosagem de 1 ml do produto para 100 ml de água. Duas pulverizações se mostraram suficientes para um controle eficiente.

4.1.2. Inóculo

Na condução dos experimentos foi utilizado um inóculo originário de uma mistura de vários isolados coletados em diferentes épocas e diferentes pontos dos campos experimentais do Instituto de Genética e Departamento de Fitopatologia da ESALQ. O inóculo foi mantido em plantas hospedeiras cultivadas em casa de vegetação.

A coleta dos esporos foi feita utilizando-se um "separador tipo ciclone" (TERVET et alii, 1951), modificado, conforme Fig. 1.

O isolamento do fungo foi feito diretamente de folhas de milho coletadas no campo, com sintomas característicos da ferrugem. Os esporos coletados foram passados duas vezes em peneira de 100 mesh, para a retirada de impurezas e, posteriormente, serem inoculados em plantas suscetíveis.

Figura 1. Aparelho coletor de esporos, "Separador tipo ciclone", de Tervet et alii (1951); modificado.

A preservação e multiplicação do inóculo foram feitas através de inoculações sucessivas em plantas da linhagem 929 - B5. Nas três primeiras inoculações, utilizou-se apenas uredosporos originários do campo. Nas inoculações subsequentes, além deste tipo de esporo foram utilizados uredosporos cultivados nas plantas em casa de vegetação. As aplicações eram feitas a intervalos de oito a dez dias. Sempre que necessário, as plantas velhas e/ou contaminadas com hiperparasitas, eram substituídas por outras novas e inoculadas sucessivamente.

A concentração do inóculo para os testes de patogenicidade foi padronizada para 4×10^3 esporos/ml. Como dispersante, utilizou-se Tween 80, na proporção de 0,03 ml para 100,0 ml de suspensão.

4.1.3. Inoculação

Os "seedlings" de milho, no estágio de três a cinco folhas foram inoculados com uma mistura de isolados previamente padronizada para uma determinada concentração de esporos.

Através de uma única inoculação, com o auxílio de agulha BD 30x8 acoplada a uma seringa hipodérmica foram aplicadas 15 gotas (mais ou menos 0,3 ml) da suspensão de uredosporos, no cartucho de cada planta. As testemunhas, representadas por plantas das linhagens 929 - B-5 e 929 - B-7, receberam em tratamentos separados, o inóculo como mencionado acima, como também a mesma dosagem de água destilada sem os esporos do patógeno.

As plantas, depois de inoculadas, foram mantidas em condições de casa de vegetação com temperatura oscilando entre 19 a 31°C, procurando-se propiciar às plantas uma boa iluminação e umidade relativa favorável até a época da avaliação.

Os experimentos foram conduzidos utilizando-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com duas repetições, sendo um mesmo experimento repetido em época diferente.

4.1.4. Avaliação

A avaliação das reações das plantas ao patógeno foi realizada na terceira e quarta ou quarta e quinta folha de cada planta, cinco a quatorze dias após a inoculação. O critério utilizado, apresentado abaixo, baseou-se no sistema de notas da escala diferencial qualitativa de Stakman (1915), citado por BULOW (1966), e STAKMAN e HARRAR (1957), universalmente aceita para ferrugens de cereais, e no sistema de avaliação, recomendado especificamente para ferrugem comum do milho, sugerido por MAINS (1931).

O critério de notas utilizado é apresentado a seguir:

0 = Alta resistência - sem pústulas, infecção indicada por pequenas áreas necróticas ou cloróticas.

- 1 = Muito resistente - urédias pequenas, acompanhadas por necroses, muitas áreas necróticas circundando as urédias.
- 2 = Resistência moderada - pústulas de tamanhos médios para pequenos, geralmente, em ilhas de tecidos verdes circundados por halo clorótico. Urédias acompanhadas por necroses, áreas necróticas, ocasionalmente circundando as urédias.
- 3 = Suscetibilidade moderada - urédias de tamanho médio com tendência a coalescência, sem áreas necróticas, podendo estar presentes áreas cloróticas.
- 4 = Alta suscetibilidade - urédias grandes e frequentemente coalescentes, esporulação abundante, hipersensibilidade ausente, podendo a folha se tornar amarelo palha.
- x (mesotético) = Indeterminado - pústulas de tamanhos variados, alguns incluindo todos os tipos acima, intergradações entre elas, nenhuma separação mecânica parece ser possível. Em geral, a infecção é de difícil definição.

4.2. Reações de linhagens de milho e seus híbridos simples (F_1) a *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação.

Neste experimento foram testadas linhagens que se mostraram resistentes ou suscetíveis em experimentos anteriores, como também híbridos simples (F_1), resultantes de cruzamentos entre linhagens resistentes e suscetíveis.

As linhagens utilizadas foram: 929 - B-5, altamente suscetível; CA - 26-1, resistente; CA - 26-2, resistente em condições de campo, não testada anteriormente em casa de vegetação, e CB - 24-2, resistente.

Os híbridos simples testados foram: CA - 26-1 x 929 - B-5 ; 929 - B-5 x CA - 26-1; CA - 26-2 x 929 - B-5; 929 - B-5 x CA - 26-2, e 929 - B-5 x CB - 24-2.

A obtenção e manutenção das plantas foi feita de maneira idêntica aquela mencionada anteriormente.

O inóculo utilizado nesta fase foi uma cultura monopustular obtida da cultura mista preservada, em condições de casa de vegetação, e mencionada anteriormente.

O processo de obtenção da cultura monopustular foi feito conforme o método utilizado por BULOW (1967), que consiste na purificação do patógeno através de passagens sucessivas pelo hospedeiro. No processo de purificação, antes de cada inoculação, as plantas foram pulverizadas com uma solução de Tween 80, na concentração de 0,03 ml/100 ml de água destilada, transferindo-se, em seguida, com o auxílio de escalpelo, os esporos de uma pústula bem isolada para as plantas previamente pulverizadas. Após o aparecimento das pústulas nas plantas inoculadas, foram selecionadas novas pústulas isoladas, repetindo-se o processo de purificação, separadamente, para cada uma das pústulas selecionadas. Durante o processo de purificação, foram feitas três passagens sucessivas pelo hospedeiro. As plantas inoculadas foram mantidas em câmara úmida por um período de 24:00 horas.

Os isolamentos monopustulares foram multiplicados duas vezes na linhagem 929 - B-5, a fim de se obter suficiente inóculo.

Com a finalidade de evitar contaminações durante o processo de purificação e multiplicação do patógeno, as plantas foram mantidas isoladas em compartimentos de plástico, especialmente construídos para essa finalidade.

A concentração do inóculo para a cultura monopustular utilizada nas inoculações foi padronizada para 4×10^3 esporos/ml, utilizando-se Tween 80 na mesma dosagem citada anteriormente.

No estudo da reação de linhagens e híbridos, foram feitas duas inoculações. A primeira quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento de três a quatro folhas e, a segunda, para confirmar os resultados da anterior, quando as plantas apresentavam de cinco a seis folhas. As inoculações foram feitas com a cultura monopustular, seguindo-se a mesma técnica já descrita anteriormente. Plantas da linhagem 929 - B-5 foram utilizadas como testemunhas inoculadas e testemunhas que só receberam água destilada com Tween 80.

As plantas inoculadas foram colocadas em câmara úmida e posteriormente mantidas em condições de casa de vegetação.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. Em média, foram testadas sete plantas por repetição, 21 por tratamento, sendo as plantas testadas por duas vezes sucessivamente.

A avaliação seguiu o critério já mencionado, fazendo-se duas avaliações para as reações apresentadas pelas linhagens e híbridos a *P. sorghi*. A primeira avaliação foi feita doze dias após a primeira inoculação, enquanto que a outra treze dias após a segunda inoculação.

4.3. Viabilidade de uredosporos de *P. sorghi*, mantidos em diferentes condições de armazenamento.

Nos testes de viabilidade dos uredosporos de *P. sorghi*, foram avaliadas a germinação e a infectividade de esporos armazenados por período variável em diferentes condições.

As avaliações, com início na ocasião da coleta, foram feitas com intervalos de 20 dias.

No primeiro experimento, foram utilizados dois tipos de esporos: esporos coletados no campo e esporos obtidos de uma cultura mista preservada na linhagem 929 - B-5, em condições de casa de vegetação. Estes diferentes tipos de esporos ao serem referidos de agora em diante poderão ser chamados, respectivamente, de esporos do campo e esporos de casa de vegetação. No primeiro experimento, a germinação e a infectividade para os diferentes tipos de esporos foram avaliadas durante um período de 60 dias de armazenamento nas diferentes condições. No segundo experimento, por falta de esporos coletados no campo, foram utilizados apenas aqueles coletados em casa de vegetação, prolongando-se o período de armazenamento para 100 dias.

No preparo dos esporos, os uredosporos coletados foram peneirados por duas vezes em peneiras de 100 mesh. Em seguida, foram acondicionados em cápsulas de gelatina, mais ou menos 10,0 mg por cápsula, e estas colocadas em frascos de vidro de 2,0 cm de diâmetro por 4,5 cm de altura. Os frascos contendo as cápsulas foram depositados em recipientes fechados, de vidro, com 5,0 cm de diâmetro por 10,0 cm de altura, contendo 50,0 ml de

solução de ácido sulfúrico 33,6% (v/v), ácido de densidade 1,84. Nestas condições, é propiciada uma umidade relativa de 50% a uma temperatura oscilando de 5 a 10°C. As câmaras assim formadas foram incubadas a duas temperaturas, respectivamente, temperatura ambiente (variando aproximadamente de 23 a 29°C) e temperatura de 5 a 10°C, em refrigerador. Nestas condições, os uredosporos foram mantidos por um período variável de 0 (zero) a 100 dias. Para cada tratamento, combinação entre temperatura e período de armazenamento, foram preparados dois frascos, cada um contendo duas cápsulas.

A avaliação da germinação dos esporos foi feita a cada 20 dias, a partir de 0 (zero) dias, sendo o poder germinativo dos uredosporos testado em substrato ágar-água a 2%. Para tanto preparou-se uma suspensão de esporos, separadamente para cada tratamento, a razão de aproximadamente 10 mg de esporos para 100 ml de água destilada contendo 0,03 ml de Tween 80. Com auxílio de uma alça de "Drigalski", 0,5 ml da suspensão de esporos foram distribuídos por placa de Petri contendo 10 ml do substrato. Em seguida, as placas foram incubadas a temperatura ambiente, no escuro.

As avaliações para o poder germinativo foram feitas 24:00 horas após a incubação. Para isto, foram contados ao microscópio, em campos diferentes, 200 esporos por placa, perfazendo um total de 800 por tratamento. Um uredosporos foi considerado como tendo germinado, quando o comprimento do tubo germinativo atingiu um tamanho superior ao diâmetro do esporo que lhe deu origem (ALLEN, 1955 e MAHINDAPALA, 1978).

O delineamento experimental utilizado foi o de parcelas inteiramente casualizadas, constando de dois tratamentos com quatro repetições. Cada repetição foi representada por uma placa de Petri. No primeiro experimento ainda contou com as variáveis, esporos coletados no campo e esporos coletados em casa de vegetação. No segundo experimento, por falta de esporos coletados no campo, foram utilizados apenas os esporos coletados em casa de vegetação.

Na avaliação da infectividade, os testes foram realizados nos mesmos dias que foram feitos os testes de germinação. Em "seedlings" de milho da linhagem 929 - B-5, num estágio de desenvolvimento correspondente a 3 - 5 folhas, foram inoculados 0,3 ml de uma suspensão de esporos no cartucho das plantas. A suspensão, contendo Tween 80 (0,03 ml/100 ml de água)

foi calibrada para uma concentração de 10^4 esporos/ml. As plantas inoculadas foram mantidas em condições de casa de vegetação (temperatura oscilando de 19 a 31°C), procurando-se manter a umidade relativa mais elevada possível.

Dez a quatorze dias após a inoculação, foram feitas as avaliações. Foi adotada uma conjugação dos sistemas propostos por: MAINS (1931), com referência à densidade de pústulas de *P. sorghi*, em milho; LEVINE (1928) quanto à porcentagem de infecção por *P. graminis* f. *tritici*, em trigo e; SACKSTON (1960), a respeito do grau de infecção por *P. helianthi*, em girassol.

O critério para as avaliações dos diferentes níveis de infecção se baseou na máxima superfície coberta com urédias, a qual foi arbitrado o valor 100%, e as demais gradações se basearam na porcentagem máxima, como é apresentado a seguir:

Muito alto (e) = alta densidade de pústulas, 100% de infecção da área inoculada.

Alto (d) = média densidade de pústulas, em torno de 65% de infecção da área inoculada.

Moderado (c) = baixa densidade de pústulas, em torno de 35% de infecção da região inoculada.

Leve (b) = poucas pústulas, em torno de 10% de infecção da área inoculada.

(f) = uma ou duas pústulas espalhadas

Sem infecção (a) = ausência de pústulas.

O delineamento experimental utilizado foi o de parcelas inteiramente casualizadas, ao modo dos testes de germinação, constando de dois tratamentos com quatro repetições. Cada repetição foi representada por um vaso contendo quatro plantas cada.

5. RESULTADOS

5.1. Reações de linhagens, variedades e composto de milho a *P. sorghi* em condições de casa de vegetação.

Nos testes de patogenicidade realizados com linhagens, variedades e composto de milho a *P. sorghi*, os sintomas iniciais nos "seedlings" apareceram a partir do terceiro ao quinto dia após a inoculação. Estes se caracterizaram por pequenos pontos cloróticos que, posteriormente, aumentaram em número e, às vezes, em tamanho, em função do grau de resistência ou suscetibilidade das plantas hospedeiras. Nas plantas com alta resistência, os pontos cloróticos permaneceram como tais, ou se transformaram em pontos ou manchas necróticas. Nas plantas de resistência moderada, os "flecks", com o transcorrer do tempo, permaneceram como tais ou se transformaram em pequenas pústulas, ou manchas clorótico-necróticas. Nas de alta suscetibilidade, os sintomas iniciais progrediram para a formação de pústulas, em sua maioria alongadas e coalescentes, o mesmo ocorrendo para as plantas com suscetibilidade moderada, diferindo estas das mais suscetíveis apenas na menor quantidade, densidade e coalescência de pústulas.

Na avaliação da reação das plantas ao patógeno, os tipos de reações apresentadas pelos hospedeiros testados variou, segundo a escala diferencial de MAINS (1931), do grau 0 (zero) ao grau 4 (quadro) (Fig. 2).

Figura 2. Reações de resistência e suscetibilidade em milho a *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação, sendo 0 (zero), alta resistência; 2 (dois), resistência moderada; 3 (três), suscetibilidade moderada; 4 (quatro), alta suscetibilidade e T, testemunha, plantas suscetíveis não inoculadas.

As diferentes reações para resistência e suscetibilidade observadas apresentaram as seguintes características:

alta resistência - ausência de sintomas, pontos e manchas cloróticos e/ou necróticos;

resistência moderada - presença de pústulas pequenas de formato arredondado a oval envolvidas por halo clorótico, frequentemente es parsas, às vezes mais concentradas, mas nunca alongadas, com ausência de coalescência. Foi frequente o aparecimento de pontos e/ou manchas clorótico-necróticas ocorrendo simultaneamente com as pústulas;

suscetibilidade moderada - presença de pústulas de tamanho médio, com tendência à coalescência, sem áreas necróticas, podendo estar presentes áreas cloróticas, densidade média de pústulas; e

alta suscetibilidade - ocorrência de pústulas alongadas, confluentes, formando riscas, tecido infectado apresentando clorose intensa (amarelo meio palha generalizado), esporulação abundante e alta densidade de pústulas por área de infecção.

Quando às reações apresentadas pelas plantas das diferentes linhagens, composto e variedades, de uma maneira geral, houve variação tanto entre como dentro dos materiais testados, conforme é apresentado nas tabelas números 1, 2 e 3.

Entre as linhagens testadas, apenas a CA - 13-3 apresentou to das as plantas com alta resistência, enquanto que as outras linhagens que apresentaram esse tipo de reação o expressaram em porcentagens variáveis.

Considerando-se os dois experimentos em conjunto, as linhagens CA - 18-1, CA - 24-3, e CB - 19-1 apresentaram mais que 50% das plantas com um alto grau de resistência, sendo que, nas demais linhagens, a por centagem de plantas resistentes foi menor.

Quanto ao composto e variedades, foi observado que existem ne les uma certa porcentagem de indivíduos com alta resistência.

Tabela 1. Frequência, em porcentagem, para os tipos de reações a *P. sorghi* em linhagens, variedades e composto de milho, em condições de casa de vegetação. (Experimento I*).

Materiais Testados	Número de Plantas Testadas	Graus de Resistência Observados			
		0	2	3	4
929 - B-1	12	-	-	25,0	75,0
929 - B-3	12	-	-	25,0	75,0
929 - B-5	12	-	-	8,3	91,7
929 - B-6	12	-	-	16,6	83,4
929 - B-7	11	-	-	9,0	91,0
CA - 12-1	12	-	33,3	66,7	-
CA - 13-3	12	100,0	-	-	-
CA - 16-2	11	54,5	45,5	-	-
CA - 17-1	09	33,3	33,4	22,2	11,1
CA - 18-1	11	36,3	63,7	-	-
CA - 23-1	11	45,5	54,5	-	-
CA - 23-4	12	-	100,0	-	-
CA - 24-3	12	50,0	8,3	41,7	-
CA - 26-1	11	18,2	81,8	-	-
CA - 26-3	12	16,7	83,3	-	-
CA - 26-4	12	25,0	75,0	-	-
CA - 29-1	12	-	-	91,7	8,3
CA - 33-2	11	36,4	63,6	-	-
CA - 35-2	10	20,0	80,0	-	-
CB - 4-1	11	27,2	72,8	-	-
CB - 7-4	12	8,3	91,7	-	-
CB - 8-2	12	-	100,0	-	-
CB - 11-2	12	-	83,3	16,7	-
CB - 13-4	07	57,1	42,9	-	-
CB - 14-1	12	-	25,0	75,0	-
CB - 14-2	12	8,3	25,0	66,7	-
CB - 16-1	12	25,0	75,0	-	-
CB - 17-1	11	45,5	54,5	-	-
CB - 18-1	12	50,0	50,0	-	-
CB - 18-2	12	-	100,0	-	-
CB - 19-1	11	72,7	27,3	-	-
CB - 24-2	12	-	75,0	25,0	-
CB - 24-4	12	8,3	83,4	8,3	-
A - 1-5-1	12	8,3	91,7	-	-
Composto Arq. LG	12	-	75,0	25,0	-
Centralmex	12	-	41,6	58,4	-
Piranão	11	27,2	45,6	27,2	-
Dentado Composto	12	16,6	16,6	58,3	8,5

* Experimento realizado em fevereiro de 1979.

Tabela 2. Frequência, em porcentagem, para os tipos de reações a *P. sorghi* em linhagens, variedades e composto de milho, em condições de casa de vegetação. (Experimento II*).

Materiais Testados	Número de Plantas Testadas	Graus de Resistência Observados			
		0	2	3	4
929 - B-1	13	-	-	23,0	77,0
929 - B-3	16	-	-	25,0	75,0
929 - B-5	15	-	-	6,7	93,3
929 - B-6	15	-	-	6,7	93,3
929 - B-7	16	-	-	6,2	93,8
CA - 12-1	15	-	100,0	-	-
CA - 13-3	16	100,0	-	-	-
CA - 16-2	11	-	100,0	-	-
CA - 17-1	10	-	100,0	-	-
CA - 18-1	16	75,0	25,0	-	-
CA - 23-1	15	-	100,0	-	-
CA - 23-4	11	-	72,7	27,3	-
CA - 24-3	15	80,0	20,0	-	-
CA - 26-1	13	-	100,0	-	-
CA - 26-3	15	-	100,0	-	-
CA - 26-4	12	-	100,0	-	-
CA - 29-1	12	-	100,0	-	-
CA - 33-2	12	41,7	58,3	-	-
CA - 35-2	-	-	-	-	-
CB - 4-1	16	-	100,0	-	-
CB - 7-4	16	-	100,0	-	-
CB - 8-2	16	-	100,0	-	-
CB - 11-2	15	-	100,0	-	-
CB - 13-4	11	-	100,0	-	-
CB - 14-1	14	-	92,9	7,1	-
CB - 14-2	14	-	100,0	-	-
CB - 16-1	12	-	100,0	-	-
CB - 17-1	10	10,0	90,0	-	-
CB - 18-1	15	40,0	60,0	-	-
CB - 18-2	04	-	100,0	-	-
CB - 19-1	12	50,0	50,0	-	-
CB - 24-2	14	-	100,0	-	-
CB - 24-4	13	-	100,0	-	-
A - 1-5-1	16	6,2	93,8	-	-
A632- HT	16	-	12,5	87,5	-
Composto Arq. LG	16	18,7	50,0	31,3	-
Centralmex	16	25,0	50,0	25,0	-
Piranão	16	6,3	43,6	37,5	12,6
Dentado Composto	15	20,0	60,0	20,0	-

* Experimento realizado em abril de 1979.

Tabela 3. Frequência, em porcentagem média, para os tipos de reações a *P. sorghi* em linhagens, variedades e composto de milho, em condições de casa de vegetação, observados nos experimentos I e II.

Materiais Testados	Número de Plantas Testadas	Graus de Resistência Observados			
		0	2	3	4
929 - B-1	25	-	-	24,0	76,0
929 - B-3	28	-	-	25,0	75,0
929 - B-5	27	-	-	7,4	92,6
929 - B-6	27	-	-	11,1	89,9
929 - B-7	27	-	-	7,4	92,6
CA - 12-1	27	-	70,4	29,6	-
CA - 13-3	28	100,0	-	-	-
CA - 16-2	22	27,2	72,8	-	-
CA - 17-1	19	15,7	68,4	10,5	5,4
CA - 18-1	27	59,2	40,8	-	-
CA - 23-1	26	19,2	80,8	-	-
CA - 23-4	23	-	87,0	13,0	-
CA - 24-3	27	66,6	14,8	18,6	-
CA - 26-1	24	8,3	91,7	-	-
CA - 26-3	27	7,4	92,6	-	-
CA - 26-4	24	12,5	87,5	-	-
CA - 29-1	24	-	50,0	45,8	4,1
CA - 33-2	23	39,1	60,9	-	-
CA - 35-2	10	20,0	80,0	-	-
CB - 4-1	27	11,1	89,9	-	-
CB - 7-4	28	3,5	96,5	-	-
CB - 8-2	28	-	100,0	-	-
CB - 11-2	27	-	92,6	7,4	-
CB - 13-4	18	22,2	77,8	-	-
CB - 14-1	26	-	61,5	38,5	-
CB - 14-2	26	3,8	65,4	30,8	-
CB - 16-1	24	12,5	87,5	-	-
CB - 17-1	21	28,5	71,5	-	-
CB - 18-1	27	44,4	55,6	-	-
CB - 18-2	16	-	100,0	-	-
CB - 19-1	23	60,9	39,1	-	-
CB - 24-2	26	-	88,4	11,6	-
CB - 24-4	25	4,0	92,0	4,0	-
A - 1-5-1	28	7,1	92,9	-	-
A - 632HT	16	-	12,5	87,5	-
Composto Arq LG	28	10,7	60,7	28,6	-
Centralmex	28	14,3	46,4	39,3	-
Piranão	27	14,8	44,5	33,3	7,4
Dentado Composto	27	18,5	40,7	37,0	3,8

Com relação ao grau de resistência 2 (dois), resistência moderada, foi observado que de modo geral, a maioria das plantas dos diferentes materiais testados se enquadrou nesta categoria.

As linhagens irmãs, 929 - B-1, 929 - B-3, 929 - B-5, 929 - B-6 e 929 - B-7 revelaram um alto grau de suscetibilidade e uniformidade nas reações, considerando-se em conjunto os graus de alta suscetibilidade e suscetibilidade moderada.

De modo geral, a reação para alta suscetibilidade não foi ou foi encontrada em frequência baixa nos diferentes materiais testados, excetuando-se as linhagens irmãs 929 - B.

Embora tenha havido variação nas reações das plantas para a maioria das linhagens, variedades e composto testados, a reação da linhagem CA - 13-3 revelou-se ser constante, como também as reações de suscetibilidade apresentadas pelas linhagens irmãs 929 - B.

Várias linhagens que apresentaram uma certa porcentagem de plantas com alta resistência no primeiro experimento apresentaram uma tendência para redução na frequência desse caráter no segundo. Assim, as linhagens CA - 16-2, CA - 23-1, CB - 4-1 e CB - 13-4 que no primeiro experimento, realizado em fevereiro de 1979, apresentaram, respectivamente, 54,5; 45,5; 27,2; e 57,1 por cento das plantas com alta resistência, no segundo experimento, realizado em abril do mesmo ano, perderam este grau de resistência, passando na totalidade a apresentar a reação de resistência moderada.

Por outro lado, a linhagem CA - 23-4, que no primeiro experimento apresentou todas as plantas com resistência moderada, revelou, no segundo experimento, que 72,7% permaneceram como tais, passando as restantes a exibirem uma reação de suscetibilidade moderada.

Quanto às variedades e composto, houve também variação nos tipos de reação do primeiro para o segundo experimento realizado.

5.2. Reações de linhagens de milho e seus híbridos simples (F₁) a *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação.

Os sintomas iniciais apresentados pelas linhagens e seus respectivos híbridos simples (F₁) foram observados a partir do terceiro ao quinto dia após a inoculação. As lesões se apresentaram, a princípio, como pequenos pontos cloróticos, em seguida, permaneceram como tais ou se transformaram em manchas clorótico-necróticas ou pústulas de tamanho pequeno a bem desenvolvido, apresentando formatos variados, arredondados, ovais ou alongados, dependendo do grau de suscetibilidade do hospedeiro.

Os tipos de reações, de acordo com a escala diferencial de MAINS (1931), são apresentados na Tabela nº 4 e Figura nº 3.

Tabela 4. Frequência, em porcentagem, para os tipos de reações em linhagens e híbridos simples de milho a uma cultura monopustular de *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação.

Materiais Testados	Número de Plantas Testadas	Graus de Resistência Observados			
		0	2	3	4
929 - B-5	21	-	-	4,8	95,2
CA - 26-1	22	-	100,0	-	-
CA - 26-1 x 929 - B-5	22	-	100,0	-	-
929 - B-5 x CA - 26-1	23	-	91,3	8,7	-
CA - 26-2	21	-	100,0	-	-
CA - 26-2 x 929 - B-5	21	-	100,00	-	-
929 - B-5 x CA - 26-2	21	-	95,2	4,8	-
CB - 24-2*	21	-	100,0	-	-
929 - B-5 x CB - 24-2	22	-	50,0	27,3	22,7

* Maior frequência de pústulas que aquela observada nas linhagens CA - 26-1 e CA - 26-2.

Figura 3. Reações apresentadas pelas linhagens CA - 26-2 (resistência moderada, à esquerda), 929 - B-5 (alta suscetibilidade, à direita) e híbrido CA - 26-2 x 929 - B-5 (moderada resistência, em baixo), a uma cultura monópuscular de *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação.

Na linhagem 929 - B-5, após o quinto dia da inoculação, houve intensa esporulação, com alta densidade de pústulas de formato alongado e posterior coalescência. As linhagens CA - 26-1, CA - 26-2 e CB - 24-2 revelaram uma resistência moderada e uma evolução de sintomas mais lenta. Nessas linhagens, os pontos cloróticos iniciais se transformam em manchas clorótico-necróticas ou pequenas pústulas arredondadas. A linhagem CB -24-2, embora classificada no grau 2 (dois) de resistência, apresentou um maior número de pústulas que as outras linhagens resistentes.

Nos híbridos, as reações foram semelhantes entre si, pouco diferindo dos pais resistentes, porém, quando nos cruzamentos recíprocos o doador de pólen foi a linhagem suscetível, houve um ligeiro aumento no número de pústulas, passando uma pequena porcentagem de plantas a apresentar uma reação de suscetibilidade moderada. No caso do híbrido 929 - B-5 x CB - 24-2, além das reações de resistência moderada apresentada por 50% das plantas, o restante revelou diferentes graus de suscetibilidade.

5.3. Viabilidade de uredosporos de *P. sorghi*. mantidos em diferentes condições de armazenamento.

Os resultados dos testes de germinação de uredosporos de *P. sorghi* coletados no campo e daqueles coletados na linhagem 929 - B-5, em condições de casa de vegetação, são apresentados na Tabela nº 5 e Figura nº 4.

Os resultados obtidos revelaram que o armazenamento dos uredosporos a baixa temperatura e a uma umidade relativa de 50% se mostrou superior ao armazenamento a temperatura ambiente.

Para um mesmo tipo de esporos, ou seja, esporos coletados no campo ou esporos obtidos na linhagem 929 - B-5 em casa de vegetação, houve uma expressiva perda do poder germinativo quando armazenados a temperatura ambiente. Os esporos coletados no campo, aos 20 dias de armazenamento, perderam 93,4% do seu poder germinativo e aos 60 dias esta perda atingiu 99,8% em relação aos esporos armazenados a temperatura de 5 a 10°C.

Figura 4. Germinação de uredosporos de *P. sorghi*, coletados no campo e casa de vegetação, armazenados sob diferentes condições.

Tabela 5. Porcentagem média de germinação de uredosporos de *P. sorghi* preservados por diferentes períodos a temperatura de 5 a 10°C e a umidade relativa de 50% e a temperatura ambiente variando de 23 a 29°C, aproximadamente.

Tratamento	Origem dos Esporos	Períodos de armazenamento (dias)					
Temperat. U.relat.		0	20	40	60	80	100

5 a 10°C	50,0% ECV*	85,6	88,0	85,1	85,8	89,5	90,1
5 a 10°C	50,0% EC **	67,5	62,0	70,7	75,1	****	-
Ambiente	- ECV	85,6	28,8	2,0	0,4	0,0	0,0
Ambiente	- EC	67,5	4,5	1,9	0,2	****	-

* Uredosporos coletados em casa de vegetação, na linhagem 929 - B-5.

** Uredosporos coletados no campo.

*** Média de leitura de 200 esporos por repetição, em oito repetições.

**** Ausência de leitura.

Os esporos obtidos na linhagem em condições de casa de vegetação, embora com perda menos expressiva nos primeiros 20 dias, também revelaram uma perda do poder germinativo quando armazenados a temperatura ambiente. No primeiro período de 20 dias, houve uma queda de 66,4% no poder germinativo, aumentando essa perda, aos 60 dias, para 96,4%. A partir dos 80 dias de armazenamento a perda no poder germinativo foi de 100,0%.

Comparando-se esporos de uma mesma origem submetidos a diferentes condições de armazenamento num mesmo período de preservação, observou-se que a perda do poder germinativo dos esporos armazenados a temperatura ambiente, foi crescente, quando considerados em relação aqueles mantidos a temperatura de 5 a 10°C.

Os esporos coletados no campo e aqueles obtidos em condições de casa de vegetação, quando comparados entre si, revelaram uma maior porcentagem de germinação inicial para aqueles obtidos em condições de casa de vegetação.

Comparando-se os resultados obtidos para os diferentes tratamentos no período de armazenamento de 20 dias, foi observada uma perda mais drástica no poder germinativo dos esporos coletados no campo que aquela obtida para os esporos coletados em casa de vegetação, quando mantidos a temperatura ambiente. Nos períodos de armazenamento correspondentes a 40 dias e 60 dias, os dois tipos de esporos mais ou menos se equivaleram em termos de esporos germinados.

A temperatura de 5 a 10°C e a uma umidade relativa de 50,0% , tanto os esporos coletados no campo como aqueles obtidos em condições de casa de vegetação não sofreram perdas no seu poder germinativo, até pelo contrário, de uma maneira geral, tiveram as porcentagens de esporos germinados aumentadas.

A infectividade para os esporos de diferentes origens e armazenados em diferentes condições por diferentes períodos de tempo variou em função das condições de armazenamento, Tabela 6 e Figuras 5 e 6.

Tabela 6. Níveis de infecção em "seedlings" de milho da linhagem 929 - B-5. por uredosporos de *P. sorghii* armazenados por diferentes períodos a temperatura de 5 a 10°C e unidade re lativa de 50,0% e a temperatura ambiente variando de 23 a 29°C, aproximadamente.

períodos de Armazenamento (dias)	Esporos oriundos do campo				Esporos oriundos de plantas cultivadas em casa de vegetação			
	Temp. Ambiente				Temp. Ambiente			
	5 a 10°C				5 a 10°C			
	Repetições							
	1	2	3	4	1	2	3	4
20	b	b	b	a	d	b	b	b
40	a	a	a	a	d	c	d	c
60	a	a	a	a	d	c	c	e
80								
100								
0*	d	d	e	c	d	d	e	c

Níveis de infectividade:

a = leve

b = moderado

c = alto

d = muito alto

* Avaliação da infectividade, por ocasião da coleta dos uredosporos, sem armazenamento prévio.

Figura 5. Níveis de infecção em "seedlings" da linhagem 929 - B-5 com esporos armazenados por 60 dias, sendo A e B infecção de esporos coletados em casa de vegetação e preservados, respectivamente, a temperatura de 5 a 10°C e ambiente, C e D infecção de esporos coletados no campo e preservados, respectivamente, a temperatura de 5 a 10°C e ambiente.

Figura 6. Níveis de infecção em "seedlings" da linhagem 929 - B-5 com esporos oriundos de casa de vegetação aos 100 dias de armazenamento, sendo A, infecção para esporos mantidos em temperatura de 5 a 10°C e B, infecção para esporos armazenados a temperatura ambiente.

Os sintomas iniciais, na avaliação da infectividade, se caracterizaram pela presença de pontos cloróticos que, em seguida se transformaram em pústulas. Para ambos os tipos de esporos, no tempo correspondente a 0 (zero) dias, os sintomas apareceram três a cinco dias após a inoculação.

Os uredosporos armazenados à temperatura de 5 a 10°C, independente de serem originários do campo ou da casa de vegetação e do período de armazenamento, produziram pontos cloróticos na mesma época, entre o terceiro e quinto dia após a deposição no cartucho. Por outro lado, as plantas inoculadas com esporos armazenados a temperatura ambiente e que ainda foram infectivos, independente de sua origem, além de apresentarem retardamento no aparecimento dos sintomas iniciais, estes apareceram em quantidades menores que aquelas observadas para esporos armazenados a temperatura mais baixa.

As plantas inoculadas com uredosporos armazenados a temperatura de 5 a 10°C apresentaram uma maior densidade e coalescência de pústulas além de uma maior área de tecido afetado. Após 100 dias de armazenamento a temperatura de 5 a 10°C, a infectividade foi bastante evidente, como ilustra a Figura 6.

As plantas inoculadas com uredosporos oriundos da casa de vegetação apresentaram, de uma maneira geral, maior densidade de pústulas e área de tecido infectado que aquelas inoculadas com esporos oriundos do campo.

Com respeito às plantas inoculadas com esporos de uma mesma origem, porém submetidos a diferentes tratamentos de armazenamento, as que foram inoculadas com esporos armazenados a temperatura de 5 a 10°C apresentaram maior área de tecido afetado, maior densidade e coalescência de pústulas que aquelas inoculadas com esporos preservados a temperatura ambiente. Já no primeiro intervalo (20 dias), foi grande a diferença entre condições de armazenamento e, a partir dos 40 dias, enquanto os esporos de campo mantidos a temperatura de 5 a 10°C mantinham mais ou menos o mesmo nível de infectividade, quando armazenados a temperatura ambiente perderam esta propriedade. Os esporos, coletados em casa de vegetação, que aos 40 dias de armazenamento a temperatura ambiente ainda produziram leves sintomas, aos 60 e 80 dias não mais infectaram as plantas, porém aos 100 dias de armazenamento, induziram novamente o aparecimento de leves sintomas. Por outro la

do, as plantas inoculadas com esporos de casa de vegetação e armazenados a temperatura de 5 a 10°C apresentaram sintomas semelhantes e com um nível de infectividade que variou de alto a muito alto, desde o início até o final do experimento com duração de 100 dias.

6. DISCUSSÃO

6.1. Reações de linhagens, composto e variedades de milho a *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação.

Na seleção de plantas para uso em programas de melhoramento que visem resistência a doença, é necessário o conhecimento dos tipos de reações apresentadas pelo hospedeiro ao patógeno, as quais, segundo HOOKER (1967), podem se manifestar de diferentes maneiras.

O inóculo utilizado na execução desta parte do trabalho consistiu de uma mistura de isolados de *P. sorghi* coletados de plantas com diferentes genótipos e mantidos na linhagem 929 - B-5, em condições de casa de vegetação. Embora o inóculo, provavelmente, fosse constituído por mais de uma raça do patógeno, os tipos de reações por ele induzidas não podem ser extrapoladas para uma ampla extensão territorial, pois, em outras áreas, poderão existir outras raças não incluídas no presente estudo, que poderão induzir outras formas de reação.

Pelos resultados obtidos, foi constatada uma grande variabilidade quanto aos tipos de reações a *P. sorghi*, tanto entre como dentro das linhagens, variedades e composto utilizadas. Os diferentes tipos de reações apresentados revelaram a existência de diferentes formas de manifestação da resistência no milho ao inóculo utilizado. Isto sugere que estes materiais se constituem em boas fontes de resistência que poderão ser, possivelmente, aproveitadas futuramente.

No material testado, segundo o critério de classificação de MAINS (1931), foram observados vários tipos de reações: alta resistência ,

resistência moderada, suscetibilidade moderada e alta suscetibilidade. Resultados semelhantes foram encontrados por STAKMAN et alii (1928), STAKMAN e HARRAR (1957) e KIM e BREWBACKER (1976), enquanto que HOOKER e RUSSEL (1962) identificaram, em linhagens de milho, reações de resistência e formas intermediárias, porém não encontraram a reação de alta suscetibilidade.

O mais alto grau de resistência ao patógeno foi encontrado na linhagem CA - 13-3. Os sintomas que, em 100,0% das plantas testadas, consistiram de pontos e manchas clorótico-necróticas refletem um alto grau de resistência.

Desconhecendo-se a natureza do inóculo quanto à existência de diferentes raças do patógeno, é impossível afirmar se a resistência observada na linhagem CA - 13-3 é devida a um gene com efeito sobre uma determinada raça ou se seria o caso de um gene com manifestação para muitas raças, uma vez que o inóculo utilizado resultou da coleta de esporos no campo.

MAINS et alii (1924) e MAINS (1931), em trabalhos semelhantes, encontraram plantas de milho com alta resistência. HOOKER e LEROUX (1957), ao testarem 120 linhagens de milho quanto ao tipo de reações a *P. sorghi*, encontraram uma que se comportou como totalmente resistente. LEROUX et alii (1954), em testes com linhagens de milho a *P. sorghi*, encontraram reações de resistência (pontos clorótico-necróticos) e suscetibilidade (pústulas desenvolvidas e esporulando), que coincidem com os resultados obtidos no presente trabalho, existindo num extremo a alta resistência da linhagem CA - 13-3 e no outro a alta suscetibilidade das linhagens irmãs 929-B.

É possível que a variabilidade encontrada para as reações ao patógeno no material testado pudesse ser diminuída caso fosse utilizado um inóculo resultante de uma cultura monopustular, no entanto a existência de possíveis raças no inóculo permitiria a detecção de melhores fontes de resistência.

Qualquer que seja a natureza da resistência encontrada na linhagem CA - 13-3, o fato de tê-la encontrado revela que o composto "A" se apresenta como um material altamente promissor na pesquisa de fontes de resistência ao patógeno. O fato de não terem sido encontradas mais linhagens com alta resistência a *P. sorghi* nos compostos "A" e "B", provavelmente, se deva ao baixo número de linhagens testadas.

De qualquer maneira, a linhagem CA - 13-3 se constitui em material altamente promissor para ser utilizado como linhagem diferenciadora nas nossas condições. Segundo CHESTER (1946), as variedades diferenciais para ferrugens de cereais devem ser criadas regionalmente para identificação de biótipos locais.

A resistência específica é muito útil em programas de melhoramento, porém o seu uso exclusivo deve ser temporário. De acordo com KIM e BREWBAKER (1976), o uso de alta resistência deve ser feito por pouco tempo para evitar-se o aparecimento de novas raças. Porém, o uso deste tipo de resistência pode ser feito por um período mais longo, desde que se disponha de novos gens de resistência e se esteja disposto a introduzi-los no hospedeiro, a medida que forem surgindo novas raças do patógeno.

Os resultados revelaram diferenças nos tipos de reações em uma mesma linhagem, quando testadas em épocas diferentes. Estes resultados podem ser explicados, provavelmente, pelas diferentes condições do ambiente existentes nas épocas em que foram realizados os experimentos, e devidos principalmente aos fatores temperatura e luz. Este fato é comentado por SYANAMANDA (1958, 1959), quando menciona que a expressão da resistência de milho a *P. sorghi* pode ser mudada em função das condições ambientais, especialmente luz e temperatura, as quais podem alterar as relações patógeno-hospedeiro tanto antes como depois da inoculação. MAINS (1931) também relata que os testes de reação de milho a *P. sorghi* devem ser feitos em épocas pré-determinadas e sugere, para o local onde trabalhou, o período de abril a dezembro, permitindo, assim, melhor distinção entre as reações de resistência e suscetibilidade.

No que concerne ao tipo de reação para resistência moderada, foram detectadas diversas fontes, tanto entre as linhagens CA como CB. Assim, os compostos "A" e "B" constituem-se em boas fontes de resistência para ferrugem comum do milho, podendo ser encontradas diferentes formas de resistência.

As linhagens CA - 17-1 e CB - 24-2, que revelaram em observações de campo uma resistência moderada a *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação, não revelaram uma resistência que se destacasse das demais. Nes

tes casos, provavelmente, pode estar envolvida a chamada "resistência de plantas adultas", mencionada por HOOKER e LeROUX (1957), KIM e BREWBAKER (1976/1977). Assim, os genótipos que apresentaram uma resistência moderada ou mesmo uma suscetibilidade moderada nos testes em casa de vegetação não devem ser descartados sem um exame mais aprimorado, a fim de não se eliminar possíveis fontes de resistência manifestadas em plantas adultas, ou resistência de campo.

É interessante observar que as linhagens 929 - B apresentaram um alto grau de suscetibilidade e uma uniformidade nas reações, sugerindo que estas linhagens podem ser utilizadas, juntamente com outras, num sistema de linhagens diferenciais ou mesmo serem utilizadas como hospedeiros para a manutenção e multiplicação dos biótipos ou raças que hoje ocorrem em nossas condições.

Com referência às variedades e composto utilizados nos testes, os resultados demonstraram que de uma maneira geral, houve uma grande variação quanto aos tipos de reações observadas.

Este fato revela serem estes materiais possuidores de certas formas de resistência que podem ser isoladas por ocasião da seleção de linhagens. Por outro lado, é interessante manter uma alta variabilidade para o caráter resistência ao patógeno na população, forçando o fungo a constantemente passar por uma seleção estabilizadora.

Diante dos fatos e análise, sugere-se que sejam testadas mais linhagens dos compostos "A" e "B" com um número mais representativo de isolados de *P. sorghi*, de diversas partes do Brasil, a fim de se detectar possíveis novas formas de resistência ao patógeno.

6.2. Reações de linhagens de milho e seus híbridos simples (F_1) a *P. sorghi*, em condições de casa de vegetação.

O conhecimento de reações de resistência ao patógeno, em material genético, é apenas um dos passos para emprego da resistência em programas de melhoramento. É indispensável conhecer-se a modalidade da herança da resistência. Segundo KIM e BREWBAKER (1976), os dados genéticos de interesse prático sobre herança devem ser identificados por cruzamentos simples.

Visando uma interação mais específica entre patógeno e hospedeiro no estudo do comportamento de híbridos simples, foi utilizado como inóculo uma cultura monopustular obtida na linhagem 929 - B-5. O processo de purificação e multiplicação do inóculo pode, segundo SHARP e SMITH (1952), envolver riscos de mutação devido às passagens sucessivas pelos hospedeiros, não estando afastada também a possibilidade de contaminação. Estas alterações na constituição genética do patógeno podem induzir reações diferentes no hospedeiro, mascarando, assim, os resultados.

Conforme os resultados obtidos, as linhagens CA - 26-1, CA - 26-2 e CB - 24-2 apresentaram uma resistência moderada e a linhagem 929 - B-5 uma alta suscetibilidade à cultura monopustular de *P. sorghi* utilizada.

Dentre os híbridos testados, (CA - 26-1 x 929 - B-5) e (CA - 26-2 x 929 - B-5) se comportaram, de maneira semelhante entre si e iguais as linhagens CA - 26-1 e CA - 26-2. Os cruzamentos recíprocos pouco diferiram dos anteriores quanto ao tipo de reação apresentada, ocorrendo um certo número de plantas com suscetibilidade moderada, o que pode ser atribuído, provavelmente, ao acaso. Estes resultados com os híbridos F_1 permitem supor que uma forma de resistência moderada encontrada no milho ao patógeno utilizado foi dominante em relação à suscetibilidade nas condições em que se realizou o experimento. E, estão de acordo com os resultados de HAGAN e HOOKER (1965) e HODKER (1963) que, trabalhando com F_1 resultante de cruzamentos simples de linhagens resistentes com suscetíveis, afirmaram que a resistência do milho a *P. sorghi* foi dominante. O último autor acrescenta ainda que a referida resistência dos híbridos se manifestou na forma de manchas clorótico-necróticas, com pequenas pústulas se formando ocasionalmente. Estes sintomas descritos coincidem com a expressão da resistência exteriorizada pelos híbridos no presente trabalho. HOOKER e LeROUX (1957), baseados em testes com híbridos, afirmam que a resistência em milho é devido a fatores dominantes, podendo em menor número ser devido a fatores recessivos.

Os resultados obtidos revelaram três diferentes tipos de reações do híbrido 929 - B-5 x CB - 24-2, sendo elas resistência moderada, moderada e alta suscetibilidade. Este fato, provavelmente, possa ser atribuído ao menor nível de resistência apresentado pela linhagem CB - 24-2, quando comparada com as demais linhagens de resistência moderada.

Em face dos resultados encontrados, estudos incluindo um maior número de plantas, outras linhagens, populações F_1 , F_2 e retrocruzamentos, até mesmo F_3 , se fazem necessários para a constatação real da herança da resistência das linhagens envolvidas, tal como o fizeram HOOKER e RUSSEL (1959), HAGAN e HOOKER (1965), HOOKER e SAXENA (1967).

6.3. Viabilidade de uredosporos de *P. sorghi* mantidos em diferentes condições de armazenamento.

Para que se possa eliminar a necessidade da manutenção de *P. sorghi* em hospedeiros suscetíveis em casa de vegetação, necessário se faz o conhecimento de métodos que possibilitem a preservação dos uredosporos em condições de laboratório.

Os estudos do poder germinativo dos uredosporos de *P. sorghi* demonstraram que tanto os esporos originários do campo como os originários de plantas mantidas em casa de vegetação, quando armazenados a temperatura ambiente, apresentaram, com o decorrer do tempo, uma crescente queda no poder germinativo. Os esporos coletados em casa de vegetação apresentaram, inicialmente, uma queda mais lenta, fato este, que talvez se deva a um maior vigor inicial para este tipo de esporos. Aos 40 dias, a perda do poder germinativo para ambos os tipos de esporos se acentuou, atingindo um nível de quase 100,0% aos 60 dias. Resultados com tendência regressiva semelhante a esses foram determinados por ZAMBOLIM e CHAVES (1974), que encontraram um poder germinativo de 1,4% aos 20 dias e 0,2% aos 40 dias, para *Hemileia vastatrix* e, 0 (zero) para *Uromyces phaseoli*, aos 40 dias de preservação.

Os resultados ainda demonstraram que o poder germinativo dos esporos coletados em casa de vegetação foi superior aquele observado para esporos coletados no campo. Isto talvez possa ser atribuído a existência de um menor número de esporos viáveis coletados no campo, visto que provavelmente foram coletadas muitas pústulas velhas, ao passo que os esporos coletados em casa de vegetação tinham aproximadamente as mesmas idades. SHARP e SMITH (1952), baseados em estudos de preservação de uredosporos do gênero *Puccinia*, relataram que as condições em que são produzidos os esporos parecem afetar a preservação.

Enquanto em temperatura ambiente, os esporos perderam o poder germinativo rapidamente, a temperatura de 5 a 10°C e umidade relativa de 50,0% ofereceram boas condições de preservação para os uredosporos armazenados. Os esporos originários do campo e aqueles coletados em casa de vegetação mostraram, inclusive, um aumento no poder germinativo com o decorrer do período de armazenamento. Este fato pode ser atribuído, provavelmente, a um grau de maturação alcançado pelos esporos mais novos coletados. ZAMBOLIM e CHAVES (1974), trabalhando com *H. vastatrix* e *U. phaseoli* sob condições idênticas de armazenamento aqui utilizadas, encontraram resultados semelhantes, isto é, poder germinativo final aos 100 dias maior que o poder germinativo inicial. Os resultados aqui encontrados, no entanto, estão em desacordo com MANEVAL (1924), o qual afirma que, em condições de câmara fria, os uredosporos de *P. sorghi* perdem gradualmente o poder germinativo. Como o autor não tece detalhes quanto às condições da câmara fria utilizada, o conflito dos resultados pode ser devido a metodologias diferentes empregadas.

Com referência ao poder infectivo dos uredosporos de *P. sorghi* armazenados nas mesmas condições que aquelas utilizadas nos testes de germinação, os resultados revelam, em linhas gerais, uma certa concordância com aqueles obtidos nos testes de germinação para os diversos intervalos.

Nos esporos coletados no campo e armazenados em condições ambientais, o poder de infecção caiu bruscamente. E, embora aos 40 e 60 dias de armazenamento tenha havido germinação, a infecção foi 0 (zero). Neste caso a falta de infecção para *P. sorghi*, quando o poder germinativo foi baixo, pode ser devido ao mesmo fator relatado por Nutman e Roberts (1963), citados por ZAMBOLIM e CHAVES (1974), segundo os quais, em testes semelhantes com *H. vastatrix*, o poder de infecção dos uredosporos é função da concentração de inóculo. Pois, estudos realizados pelos referidos autores mostraram que 62,0% dos esporos que formaram tubos germinativos não penetraram no hospedeiro.

Pela análise dos resultados da Tabela 6, observa-se que fenômeno contrário ocorreu com os uredosporos aos 100 dias de armazenamento, onde, embora o poder germinativo fosse 0 (zero), houve ainda leve nível de infecção. Este resultado conflitante com o anterior pode ser explicado, provavelmente, também com base na concentração de inóculo. Pois, enquan-

to nos testes de infectividade está envolvida uma grande quantidade de esporos, nos testes de germinação poucos uredosporos são contados. Resultados semelhantes a estes aqui relatados foram encontrados por SACKSTON (1960), para *Puccinia helianthi* e, por ZAMBOLIM e CHAVES (1974), para *U. phaseoli*.

Os resultados obtidos para o período de 100 dias de armazenamento dos uredosporos de *P. sorghi* a temperatura de 5 a 10°C e 50,0% de umidade relativa vem confirmar aqueles encontrados por SHEIN e ROTEN (1965), para uredosporos do gênero *Puccinia*, e ROMEIRO e CHAVES (1971), para esporos de *H. vastatrix*, os quais relataram que as condições de temperatura e umidade relativa acima citadas são boas para a preservação da viabilidade dos uredosporos.

Em face da maioria dos trabalhos com *P. sorghi* em milho absorverem mais de 100 dias e levando em conta ainda os relatos de MANEVAL (1924), o qual afirma que os uredosporos de *P. sorghi* perdem gradualmente o poder germinativo quando mantidos em câmara fria, embora em certos casos permanecendo com baixa viabilidade até os 180 dias de armazenamento, sugere-se que o ensaio de viabilidade de uredosporos para o referido patógeno seja feito por um período mais longo, envolvendo outras variáveis como a umidade relativa além da variável temperatura.

7. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho, nas condições em que foi realizado, permite as seguintes conclusões:

1. Tanto nas linhagens CA do composto "A", como nas linhagens CB do composto "B", foram detectadas diferentes reações de resistência, em condições de casa de vegetação, aos isolados de *Puccinia sorghi* testados.

2. Das linhagens testadas, apenas a CA - 13-3 apresentou uma alta resistência ao inóculo utilizado, sem segregação para outro tipo de reação.

3. As variedades e composto testados se revelaram como boas fontes de resistência para seleção de linhagens com resistência ao patógeno utilizado.

4. A resistência apresentada pelas linhagens CA - 26-1 e CA - 26-2 revelou-se como dominante em relação à suscetibilidade nas plantas F_1 resultantes de cruzamentos com a linhagem 929 - B-5.

5. As condições de armazenamento afetam a germinação dos uredosporos de *P. sorghi*. O armazenamento de esporos de *P. sorghi* a temperatura de 5 a 10°C e umidade relativa de 50,0% são condições adequadas para manutenção do poder germinativo dos esporos por um período de até 100 dias, enquanto que armazenados sob condições ambientais (23 a 29°C, aproximadamente) em solução de ácido sulfúrico 33,6 (v/v), os uredosporos deste fungo perdem o poder germinativo quase totalmente no primeiro mês de armazenamento.

6. As condições de armazenamento afetam o poder de infecção dos uredosporos de *P. sorghi* de maneira análoga como afetam o poder germinativo nos diversos períodos testados durante os 100 dias.

8. SUMMARY

The reactions of corn seedlings to a mixture of isolates of *Puccinia sorghi* Schw. was tested under greenhouse conditions. Necrotic and chlorotic lesions were the reactions observed on the most resistant materials. Differences in pustule size were the reactions observed for moderate resistance, moderate susceptibility and susceptibility.

The materials tested showed different levels of resistance and susceptibility to the pathogen.

Seedlings of hybrids, F_1 , resulting from crosses between resistant and susceptible lines, when tested under greenhouse conditions, revealed that resistance was dominant over susceptibility.

The viability of uredospores of *P. sorghi* was influenced by the storing conditions. Germination of uredospores and the infective power decreased considerably for spores stored under laboratory conditions. The germination and the infective power was maintained at a high level for spores stored, during a 100 days storage period, at 5 to 10°C and a 50% relative humidity.

9. LITERATURA CITADA

- ALLEN, P.J., 1955. The role of a self-inhibitor in the germination of rust uredospores. Phytopathology 45:259-266.
- ALLEN, R.F., 1933. The spermatia of corn rust, *P. sorghi*. Phytopathology 23:923-925.
- ALLEN, R.F., 1934. A cytological study of heterotalism in *P. sorghi*. J. Agric. Res., 49: 1047-1068
- BULOW, J.F.W., 1966. As ferrugens (*P. sorghi*, *P. polysora*, *Physopella zae*) do milho (*Zea mays*). I. Revisão bibliográfica. Pesq. Agropec. Bras., 1:249-262.
- BULOW, J.F.W., 1967. As ferrugens (*P. sorghi*, *P. polysora*, *Physopella zae*) do milho (*Zea mays*). III. Raças de ferrugem comum (*P. sorghi*) e linhagens diferenciais de milho. Pesq. Agropec. Bras., 7:229-235.
- BULOW, J.F.W., 1967. As ferrugens (*P. sorghi*, *P. polysora*, *Physopella zae*) do milho (*Zea mays*). IV. Avaliação das perdas causadas pela ferrugem comum. Pesq. Agropec. Bras., 2:277-280.
- BULOW, J.F.W., 1967. As ferrugens (*P. sorghi*, *P. polysora*, *Physopella zae*) do milho (*Zea mays*). V. Provas de resistência do milho à ferrugem comum (*P. sorghi*). Pesq. Agropec. Bras., 2:337-342.
- CHESTER, K.S., 1946. The nature and prevention of the cereal rusts as exemplified in the leaf rust of wheat. Chronica Botanica Co., Waltman, Mass. 269 p.
- DAVISON, P.A. e VAUGHAN, E.K., 1963. Effect of urediospore concentration on determination of races of rust fungi. Phytopathology 53:1138.
- DUGAR, B.M., 1909. Fungus Diseases of Plant. New York, Ginn and Co. 508 p.

- FORSYTH, F.R., 1955. The nature of the inhibiting substance emitted by germinating uredospores of *P. graminis* v. *tritici*. Can. J. Bot., 33:363-373.
- HAGAN, W.L. e A.L. HOOKER, 1965. Genetics of reaction to *P. sorghi* in eleven corn inbred lines from central and south america. Phytopathology, 55:193-197.
- HOOKER, A.L., 1955. Corn diseases in Iowa nurseries in 1953 e 1954. Plant Dis. Rep., 39:381-383.
- HOOKER, A.L., 1962. Additional sources of resistance to *P. sorghi* in the United States. Plant Dis. Rep., 46:14-16.
- HOOKER, A.L., 1963. A second major gene in corn conditioning resistance to *P. sorghi*. Phytopathology, 53:221-223.
- HOOKER, A.L., 1967. The genetics and expression of resistance in plants to rust of the genus *Puccinia*. Annu. Rev. Phytopathol., 5:163-183.
- HOOKER, A.L. e P.M. LeROUX, 1957. Sources of protoplasmatic resistance to *P. sorghi* in corn. Phytopathology, 47:187-191
- HOOKER, A.L. e W.A. RUSSEL, 1959. Inheritance of resistance to *P. sorghi* in corn. Phytopathology, 49:541.
- HOOKER, A.L. e W.A. RUSSEL, 1962. Inheritance of resistance to *P. sorghi* in six inbred lines. Phytopathology, 52:122-128.
- HOOKER, A.L. e K.M. SAXENA, 1967. Apparente reversal of dominance of a gene in corn resistance to *P. sorghi*. Phytopathology, 57:1372-1374
- HOOKER, A.L. e K.M. SAXENA, 1971. Genetics of disease resistance in plants Annu. Rev. Gen., 5:408.
- HOOKER, A.L., G.F. SPRAGUE e W.A. RUSSEL, 1955. Resistance to rust (*P. sorghi*) in corn. Agronomy Journal, 47:388.
- HOU, H.J., J. TSENG e M. SUN, 1978. Occurrence of corn rusts in Taiwan Plant Dis. Rep., 62:183-186.
- KILPATRICK, R.A. e C.L. MOBEY, 1967. Survival of selected fungi stored in liquid nitrogen. Plant Dis. Rep., 51:539-540.
- KIM, S.K. e J.L. BREWBAKER, 1976. Effects of *P. sorghi* rust on yield and several agronomic traits of maize in Hawaii. Crop Science, 16:874-877
- KIM, S.K. e J.L. BREWBAKER, 1976. Sources of general resistance to *P. sorghi* on maize in Hawaii. Plant Dis. Rep., 60:551-555.
- KIM, S.K. e J.L. BREWBAKER, 1977. Inheritance of general resistance in maize to *P. sorghi*. Crop Science, 17:456-461

- KRAMER, H.H. e A.J. ULLSTRUP, 1959. Preliminary evaluation of exotic maize germ plasm. Agronomy Journal, 51:687-689
- LeROUX, P.M., J.G. DICKSON, A.L. HOOKER e G.F. SPRAGUE, 1954. A genetic basis for rust reaction on corn. Phytopathology, 44:496.
- LeROUX, P.M. e J.G. DICKSON, 1957. Physiology, especialization, and genetics of *P. sorghi* on corn and of *P. purpurea* on sorghum. Phytopathology, 47:101-107.
- LEVINE, M.N., 1928. Biometrical studies on the variation of fisiologic formas of *P. graminis tritici* and the effects of ecological factors on the susceptibility of wheat varieties. Phytopathology, 18:7-123.
- LOEBERING, W.Q., H.H. McKINNEY, D.L. HARMON e W.A.A. CLARK, 1961. Long term experiment for preservation of urediospores of *P. graminis tritici* in liquid nitrogen. Plant Dis. Rep., 45:384-385.
- MAHINDAPALA, R. 1978. Host and environmental effects on the infection of maize by *Puccinia sorghi*. I. Prepenetration development and penetration. Ann. Appl. Biol., 89:411-416.
- MAHINDAPALA, R., 1978. Occurrence of maize rust, *P. sorghi*, in England R.P.P. (57, 4918).
- MAHINDAPALA, R., 1978. Host and environmental effects on the infection of maize by *P. sorghi*. II. Post-penetration development. Ann. Appl. Biol. 89:417-421.
- MAINS, E.B., 1917. The relation of same rusts to the phisiology of their hosts. Am. J. Bot., 4:179-220.
- MAINS, E.B., F.J. TROST e G.M. SMITH, 1924. Corn resistant to rust, *P. sorghi*. (Abstract) Phytopathology, 14:47-48.
- MAINS, E.B., 1926. Studies in rust resistance. Journal Heredity, 17:313-325.
- MAINS, E.B., 1928. Inheritance of resistance to *P. sorghi* in maize. Phytopathology, 18:138.
- MAINS, E.B., 1931. Inheritance of resistance to rust, *P. sorghi*, in maize J. Agric. Res., 43:419-430.
- MANEVAL, W.E., 1924. The viability of uredospores. Phytopathology, 14:403-407.
- MARTINEZ, C.A., 1977. Effects of *P. sorghi* on yeld of flint corn in Argentina. Plant Dis. Rep., 61:256-258.
- MEDERICK, F.M. e W.E. SACKSTON, 1972. Effects of temperature and duration of dew period on germination of rust urediospores on corn leaves. Can. J. Plant Sci., 52:551-557.

- MELHUS, I.E., 1912. Culturing of parasitic fungi on the host. Phytopathology, 2:197-203.
- PAYAK, M.M., R.C. CHARMA, B.M. SINGH e J. LILARAMANI, 1974. Performance of maize lines carrying single gene resistance to *H. turcicum* and *P. sorghi* in India. R.P.P., (57, 2089)
- ROMEIRO, R.S. e G.M. CHAVES, 1971. Germinação e poder infectivo dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. mantidos sobre diferentes produtos vegetais e o seu suscetível. Experientiae, 17:242-264.
- RUSSEL, W.A., 1965. Effect of corn leaf rust on grain yield and moisture in corn. Crop Science, 5:95-96.
- RUSSEL, W.A. e A.L. HOOKER, 1959. Inheritance of resistance in corn to rust *P. sorghi* Schw., and genetic relationships among different sources of resistance. Agronomy Journal, 51:21-24
- SACKSTON, W.E., 1960. Longevity of urediospores of *Puccinia helianthi*. Can. J. Bot., 38:883-889.
- SCHIEBER, E.H., A.E.V. RODRIGUEZ e S.F. FUENTES, 1964. Distribution of *P. sorghi* and *P. polysora* in Central México. Plant Dis. Rep., 48:425-427.
- SHARP, E.L. e F.G. SMITH, 1952. Preservation of *Puccinia* urediospores by lyophilization. Phytopathology, 42:263-264.
- SHARP, E.L. e F.G. SMITH, 1957. Further of the preservation of *Puccinia* urediospores. Phytopathology, 47:423-429.
- SHEIN, R.D. e J. ROTEN, 1965. Temperature and humidity effects on urediospores viability. Mycologia, 57:397-403.
- SIMKIN, M.B. e B.E. WHEELER, 1974. The development of *P. sorghi* on Barley cv. Zephyr. Ann. Appl. Biol., 78:225-235.
- STAKMAN, E.C., J.J. CHRISTENSEN e H.E. BREWBAKER, 1928. Physiologic specialization in *P. sorghi*. Phytopathology, 18:345-354.
- STAKMAN, E.C. e J.C. HARRAR, 1957. Principles of Plant pathology. New York, The Ronald Press Comp. 581 p.
- SYANAMANDA, R., 1958, 1959. Physiological investigations with corn rust. I. The influence of temperature and light upon rust development and a expression of resistance. II. The influence of carbohydrates on rust development and effect of rust on the trend of oxygen take up. Dissertation Abstract, 18:6
- TERVET, I.W. e R.C. CASSEL, 1951. The use of cyclone separator in race identification of cereal rusts. Phytopathology 41:286-290.

- TERVET, I.W., A.J. RAWSON, E. CHERRY e R.B. SAXON, 1951. A method for the collection of microscopic particles. Phytopathology, 41:282-285.
- ULLSTRUP, A.J., 1951. The effect of some leaf diseases on grain yield on corn. (Abstr.) Phytopathology, 41:36.
- VAN DYKE, C.G. e A.L. HOOKER, 1969. The Z reaction in corn to *P. sorghi*. Phytopathology, 59:33-36.
- VIEGAS, A.P., 1945. Alguns fungos do Brasil. IV. Bragantia, 5:1-96.
- WATERS, C.W., 1928. The control of teliospore and urediospore formation by experimental methods. Phytopathology, 18:157-213.
- WEBER, G.F., 1922. Studies on corn rust. Phytopathology, 12:89-97.
- YARWOOD, C.E., 1956. Simultaneous self-stimulation and self-inhibition of uredospores germination. Mycologia, 48:20-24.
- ZAMBOLIM, L. e G.M. CHAVES, 1974. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* e *Uromyces phaseoli typica*. Experientiae, 17:151-84.
- ZENHER, M.G. e H.B. HUMPREY, 1929. Smuts and rusts produced in cereals by hypodermic injection of inoculum. J. Agric. Res., 38:623-627.