



Avaliação do comportamento de cultivares de milho na presença da helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs

Pedro Manuel Carvalho Nunes Guiomar

Dissertação para obtenção do grau de mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Doutor Arlindo Lima

Co-orientador: Licenciado Luís Manuel Cordeiro Grifo

Júris:

Presidente: Doutora Cristina Maria Moniz Simões Oliveira, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutor Arlindo Lima, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Ana Paula Ferreira Ramos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Ana Maria da Costa Aldir Magro, Investigadora Auxiliar do Instituto de Investigação Científica Tropical

Licenciado Luís Manuel Cordeiro Grifo, na qualidade de especialista

Lisboa, 2011

Agradecimentos

Ao Prof. Arlindo Lima, pela sua disponibilidade e conhecimentos transmitidos ao longo das diversas etapas desta dissertação;

Ao Instituto Superior de Agronomia, em especial à Sra. Amélia Marques, pela ajuda na manutenção dos ensaios de estufa;

A toda a equipa da Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal que sempre me apoiou na elaboração desta dissertação, em especial ao Eng. Luís Grifo pela sua disponibilidade e ajuda na recolha de informação, e na elaboração dos ensaios de campo. Ainda ao Eng. Vasco Salgueiro (delegado da região centro), ao Eng. Tiago Marques (técnico da região centro) e ao colega António Canhão (técnico da região sul), pelas suas colaborações e espírito de equipa;

À Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, em especial pelo apoio e conselhos dados pelo Medina de Sousa e seu colaborador Simões, na colheita dos ensaios de campo;

Ao Instituto Politécnico de Beja Escola Superior Agrária, mais concretamente ao Eng. Manuel Patanita, pela sua receptividade e simpatia e à Eng.^a Natividade Costa, pela simpatia e apoio dado, sempre que necessário;

Às empresas Tecnoferti e Sapec, pelas recomendações e disponibilidades comerciais;

Ao Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio, pela disponibilidade de informação relativa aos dados meteorológicos de Odemira;

À Escola Superior Agrária de Coimbra, em especial à Eng.^a Rosa Guilherme, pela disponibilização de informação relativa às condições meteorológicas de Coimbra;

A todos os meus amigos em geral, e mais concretamente ao João Malveiro, João Rodrigues e Luís Gomes, pela ajuda directa na manutenção dos ensaios de campo;

A toda a minha família, com maior destaque aos meus pais que todo o apoio e ensinamentos me têm dado ao longo da minha vida, e ao meu irmão João, pela sua grande disponibilidade, amizade sempre demonstrada e à sua ajuda em grande parte dos momentos da minha vida;

Ainda à minha namorada, Ana, pela sua amizade, paciência e ajuda em todos os momentos importantes.

Resumo

A helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum* é uma doença chave do milho em todas as regiões de produção. Neste trabalho determinou-se a susceptibilidade de quatro cultivares de milho a isolados de referência de *E. turcicum* em condições controladas e avaliou-se o rendimento em grão destas cultivares, submetidas a seis tratamentos, quatro com fungicidas (carbendazime+flusilazol ou tebuconazol), um com adubação NPK e outro como testemunha. Os ensaios de campo foram realizados em Odemira e Coimbra, tendo os locais sido seleccionados com base na presença endémica de helmintosporiose nos últimos anos. Avaliou-se a susceptibilidade das cultivares à helmintosporiose através da escala Pioneer “Scoring Northern Leaf Blight” e determinou-se o rendimento em grão, peso de 1000 grãos e peso específico. Nos ensaios de inoculação todas as cultivares mostraram igual nível de susceptibilidade. No ensaio de Coimbra não houve incidência de helmintosporiose. No ensaio de Odemira foram registadas diferenças significativas na severidade da doença entre as cultivares e entre os tratamentos, tendo a severidade sido menor na cultivar PR34P88 e nos tratamentos com duas aplicações de tebuconazol. Os tratamentos levaram igualmente a diferenças significativas no peso de 1000 grãos. O rendimento em grão variou significativamente em função do local e da cultivar.

Palavras-chave: Cultivares de milho, helmintosporiose, severidade, fungicidas, rendimento em grão, Odemira

Abstract

The Northern leaf blight (NLB) caused by *Exserohilum turcicum* is one of the maize key diseases in all regions of production. In this dissertation, the susceptibility of four maize cultivars to reference isolates of *E. turcicum* was established under controlled conditions and the grain yield of the same cultivars evaluated and submitted to six treatments. Four treatments were engaged with fungicides (carbendazim+flusilazol or tebuconazol), one with NPK fertilizer and the sixth as a control. Field trials were conducted in Odemira and Coimbra, both places with known endemic presence of NLB in recent years. The susceptibility of cultivars to *E. turcicum* was evaluated with the Pioneer scale “Scoring Northern Leaf Blight” and the grain yield determined as 1000 grains weight and as specific weight. In the inoculation trials all cultivars showed the same level of susceptibility. The Coimbra trial didn’t show any incidents of NLB. In the Odemira tests significant differences in disease severity were registered amongst cultivars and between treatments. The lower disease severity was recorded in the PR34P88 cultivar and in the treatment with two applications of tebuconazol. The treatments also led to significant differences in specific weight and 1000 grains weight. The grain yield varied significantly depending on the location and the cultivar.

Key-words: Maize cultivars, NLB, severity, fungicide, grain yield, Odemira

Extended Abstract

The maize plantation is of great importance worldwide playing central focus on the social and economic needs of a country. In some countries it is seen as the foundation of the main diet, while in others is a source of wealth through exportation. Fungi problems can cause losses that compromise its final production into grain yield, making it impractical in certain situations. In Portugal, the false head smut, NLB and the several species of *Fusarium* are noteworthy, for its further spread. NLB caused by *Exserohilum turcicum*, a serious and important maize disease that grows on the leaves and occasionally on the bracts of ear which, on the most sensitive cultivars under favourable conditions to the development of epidemics, can lead to the complete desiccation of the leaves before the grain matures (Lima 2004).

The experimental component was divided in two distinct scenarios: the greenhouse inoculations and field trials. In the greenhouse were conducted inoculations with seven *E. turcicum* isolates with the purpose of evaluating the susceptibility of four maize cultivars. The seven isolates of reference fungal collection of the working group of the Plant Pathology Institute of Agronomy were stored at -20 °C. Plants in V6 stage (Iowa State University, 1993), were inoculated by spraying a suspension containing 25000 spores/ml and the interaction of phenotypic resistance or susceptibility was determined based on the presence of chlorotic or necrotic lesions and extension these last. In the other scenario, the field trials were conducted with the aim of evaluating the grain yield of the four maize cultivars depending on its site susceptibility to the *E. turcicum* as well as evaluate the efficiency treatment using different fungicides and NPK fertilization treatments. The choice of locations for the field trials (Odemira and Coimbra), were made based on the subsequent NLB endemic presence in recent years, established on the history record of disease in these regions and results obtained in field trials conducted by Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal. The trial delimitation was made in randomized blocks, with 3 replications for each field trial, with four maize cultivars from the Pioneer Hi-Bread (PR34P88 – FAO 500, PR34N43 – FAO 500, PR35Y65 – FAO 400 e PR35Y69 – FAO 400 YG) which took place during the 2010 cropping season. The cultivars were selected based on their levels of susceptibility to *E. turcicum* being the PR34P88 cultivar considered moderately susceptible to moderately resistant, the PR34N43 cultivar moderately susceptible and the PR35Y65 and PR35Y69 cultivars were susceptible. The susceptibility to NLB was assessed using the scores range of the Pioneer Hi-Bred 'Scoring Northern Leaf Blight' based on scores from 1 to 9 in function of the foliar area affected by the disease. To appreciate the behaviour of the maize cultivars on the field trials, ANOVA was used to analyse the

following parameters under study: the grain yield (14% moisture basis), 1000 grain weight, specific weight and the NLB severity considering local cultivars and treatments with an error of significance determined by the Tuckey test ($p < 0,05$).

The weather is a major factor influencing the presence of NLB caused by *E. turcicum* in maize, due to this factor the disease only appeared in the field trial of Odemira, about five weeks after the VT stage, when the conditions of temperature and humidity were favourable to beginning the infection process. The results obtained in the field trials, show that the trial of Coimbra had an average grain yield more than 1000 kg/ha compared to trial in Odemira and that its 1000 grain weight average was 385,9 g, lower than the obtained in Coimbra trial, 406,6 g. The value of specific weight was identical in both locations. The cultivar PR34N43 had the highest yield of grain, 16389 kg/ha, all cultivars had a similar specific weight except the PR34P88 cultivar which had the lowest value, 68 kg/hl. The PR35Y69 cultivar had the highest value in 1000 grain weight, 405,6 g. The treatments did not influence any parameters under study. In assessing the results of the field trial of Odemira, some cultivars differed in grain yield, specific weight and severity of NLB, only the 1000 grain weight was the same in all cultivars. The PR34N43 cultivar obtained the highest grain yield (16700 kg/ha) and the highest specific weight (70,6 kg/hl), while PR34P88 cultivar obtained the highest level of tolerance to NLB in all the treatments (5,4) including the control (5,7). Treatments did not affect the grain yield and the specific weight among cultivars. However, the 1000 grain weight was significantly increased with the fungal treatment carbendazim + flusilazole, compared with a control treatment and NPK fertilization. About severity of NLB, two applications of tebuconazole treatment (7,2) was more effective in protecting crops, followed by the two applications of carbendazim + flusilazole (5,6). The results of inoculations with the same maize cultivars, carried out in a greenhouse, showed that all cultivars were susceptible to the reference isolates of *E. turcicum*.

Índice

Agradecimentos	I
Resumo	II
Abstract	III
Extended Abstract	IV
Índice de Quadros	VIII
Índice de Figuras	X
Índice de Abreviaturas	XI
1. Introdução	1
2. A helmintosporiose do milho causada por <i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) K.J. Leonard & Suggs	4
2.1. Ciclo de vida de <i>Exserohilum turcicum</i>	4
2.2. Sintomatologia	6
2.3. O milho e outros hospedeiros.....	6
2.3.1. Ciclo de Vida (Estádios de Desenvolvimento)	7
2.3.2. Outros hospedeiros	9
2.4. Distribuição geográfica da helmintosporiose	9
2.5. Prejuízos e quebras no rendimento de grão	10
2.6. Meios de Luta.....	11
2.6.1. Genética.....	12
2.6.2. Química	13
2.6.3. Medidas culturais e outros meios de luta	14
2.7. Escalas de avaliação da severidade da helmintosporiose	16
2.8. Importância da helmintosporiose em Portugal.....	16
3. Material e Métodos	19
3.1. Ensaios de Campo	19
3.1.1. Características gerais das cultivares	19
3.1.2. Locais dos ensaios.....	19
3.1.3. Delineamento experimental	20
3.1.4. Dimensões dos ensaios	21
3.1.5. Itinerário técnico nos ensaios	22
3.1.5.1. Ensaio Coimbra	22
3.1.5.2. Ensaio Odemira	23
3.1.6. Condições meteorológicas durante o período dos ensaios.....	25

3.1.7. Metodologia para avaliação da susceptibilidade das cultivares a <i>Exserohilum turcicum</i>	25
3.1.8. Metodologias para avaliação de outros factores em estudo	26
3.1.8.1. Avaliação do rendimento em grão	26
3.1.8.2. Avaliação do peso de 1000 grãos.....	26
3.1.8.3. Avaliação do peso específico	26
3.2. Avaliação da susceptibilidade das cultivares em condições controladas.....	26
3.2.1. Local do ensaio.....	26
3.2.2. Preparação do ensaio.....	26
3.2.3. Isolados de <i>Exserohilum turcicum</i> inoculados e condições de inoculação	27
3.3. Tratamento estatístico	28
4. Resultados e Discussão.....	29
4.1. Comportamento das cultivares nos ensaios	29
4.1.1. Rendimento em grão.....	29
4.1.2. Peso de 1000 grãos e Peso Específico	31
4.1.3. Severidade da helmintosporiose.....	36
4.2. Comportamento das cultivares no ensaio de campo de Odemira.....	36
4.2.1. Rendimento em grão.....	36
4.2.2. Peso de 1000 Grãos e Peso Específico	38
4.2.3. Severidade da helmintosporiose.....	41
4.3. Susceptibilidade das cultivares em condições controladas	44
5. Conclusões	47
6. Referências Bibliográficas	50
Anexos.....	56

Índice de Quadros

Quadro 1. Severidade da helmintosporiose causada por <i>E. turcicum</i> no milho em diferentes locais de produção.	11
Quadro 2. Características gerais das cultivares de milho em estudo.	20
Quadro 3. Adubos utilizados no ensaio de Coimbra.....	22
Quadro 4. Adubos utilizados no ensaio de Odemira.	24
Quadro 5. Dados de passaporte dos isolados de <i>Exserohilum turcicum</i> utilizados na inoculação das cultivares de milho do ensaio.	27
Quadro 6. Tipos de sintomas observados nas cultivares de milho com isolados de <i>Exserohilum turcicum</i> e sua classificação em grupos de reacção (adaptado de Hooker, 1977).	28
Quadro 7. Caracterização do rendimento médio em grão em função do local no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	29
Quadro 8. Caracterização do rendimento em grão em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	30
Quadro 9. Caracterização do rendimento em grão em função do tratamento no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	31
Quadro 10. Caracterização do peso de 1000 grãos em função do local no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	32
Quadro 11. Caracterização do peso específico em função do local no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	32
Quadro 12. Caracterização do peso de 1000 grãos em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	33
Quadro 13. Caracterização do peso específico em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	33
Quadro 14. Caracterização do peso de 1000 grãos em função do tratamento no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	34
Quadro 15. Caracterização do peso específico em função do tratamento no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.	34
Quadro 16. Caracterização do rendimento em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.	37
Quadro 17. Caracterização do rendimento em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.	38
Quadro 18. Caracterização do peso de 1000 grãos em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.	39

Quadro 19. Caracterização do peso específico em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.	39
Quadro 20. Caracterização do peso de 1000 grãos em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.....	40
Quadro 21. Caracterização do peso específico em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.....	40
Quadro 22. Caracterização da severidade da helmintosporiose em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.....	42
Quadro 23. Caracterização da severidade da helmintosporiose em função da testemunha no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.	43
Quadro 24. Caracterização da severidade da helmintosporiose em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.	43
Quadro 25. Reacções determinadas nas inoculações das cultivares de milho do ensaio com isolados de referência de <i>E. turcicum</i>	44

Índice de Figuras

Figura 1. Distribuição geográfica da helmintosporiose causada por <i>E. turcicum</i> no milho (CIMMYT, 2010).....	10
Figura 2. Ciclo de vida de <i>E. turcicum</i> no milho (Adaptado de Pioneer Hi-Bred Internacional, 2002).	5
Figura 3. Localização do ensaio de campo realizado em Alfarelos.	19
Figura 4. Localização do ensaio de campo realizado na Longueira.	20
Figura 5. Perspectiva lateral dos talhões dos ensaios de campo de Odemira.....	21
Figura 6. Lesões nas folhas de milho causadas por <i>E. turcicum</i> no ensaio de campo de Odemira.....	41
Figura 7. Lesões necróticas e morte de folhas, 10 dias após inoculação (aspecto geral). 45	
Figura 8. Lesões necróticas na extremidade de uma folha, 10 dias após inoculação (pormenor).....	46

Índice de Abreviaturas

U.E. (27) – União Europeia constituída por 27 países

DGADR – Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural

IPB-ESA – Instituto Politécnico de Beja Escola Superior Agrária

ISA – Instituto Superior de Agronomia

NLB – Northern leaf blight (helminthosporiose causada por *E. turcicum*)

E. turcicum – *Exserohilum turcicum*

a.C. – Antes de Cristo

V – Estádio vegetativo

R – Estádio reprodutivo

°F – Graus Fahrenheit

NSKE – Neem Seeds Kernel Extract

PDA - Potato Dextrose Agar

YG – Yield Gard

Bt - *Bacillus thuringiensis*

Mon 810 – Cultivar de milho geneticamente modificada desenvolvida pela empresa Monsanto Company

1. Introdução

A cultura do milho assume uma grande importância mundial, sendo cultivada em praticamente todos os países do mundo com diversos climas (Ceballos *et al.*, 1991). Actualmente, mediante a selecção orientada de cultivares e o aprimoramento de métodos de gestão cultural, é produzido em regiões compreendidas entre 58° de latitude norte (Canadá e Rússia) a 40° de latitude sul (Argentina), distribuindo-se nas mais diversas altitudes, encontrando-se cultivado desde zonas situadas abaixo do nível médio do mar (região do mar Cáspio) até locais com mais 3600 metros de altitude (Andes peruanos) (Fancelli, 1993). Tanto na vertente social como económica esta cultura desempenha um papel fulcral, uma vez que para alguns países serve de base na alimentação humana enquanto para outros é vista como uma fonte de riqueza pelas exportações. Neste momento os cereais, em particular o milho, têm grande impacto nas bolsas mundiais, podendo ser consultados/negociados nalgumas das mais importantes bolsas com uma base de valorização diária.

De acordo com a FAOSTAT (2011), estima-se que em 2009 a produção mundial de milho em grão rondou as 817 110 509 toneladas, numa área de exploração agrícola de cerca de 159 531 007 hectares (Anexo I). O milho ocupou em 2008 a segunda posição no ranking mundial em termos de volume de produto, ultrapassado apenas pela cana de açúcar, suplantando o arroz e o trigo (Anexo II A1). Nesse ano, os Estados Unidos da América (37,2%) e a China (20,1%) foram os dois principais produtores, contribuindo com cerca de 58% da produção mundial (Anexo III). Na União Europeia, no ano de 2009, a cultura do milho ocupou uma área de 8 349 407 hectares (5,2% da área total de milho no mundo) que originou um volume de produção de 57 778 082 toneladas (7,1% da produção mundial) (Anexo I). O milho ocupou em 2008 a quinta posição no ranking da União Europeia em termos de volume de produto, ultrapassado pelo trigo, leite, açúcar de beterraba e cevada (Anexo II A2). Os quatro principais produtores de milho em 2009 na União Europeia foram: França (25,1%), Hungria (14,1%), Roménia (12,5%) e Alemanha (8,1%) (Anexo III). Em relação a Portugal em 2009, este ocupava uma modesta décima terceira posição ao nível da representatividade na produção de milho de grão, com cerca de 1% do volume produzido (593 500 toneladas em cerca de 87 600 hectares (FAOSTAT, 2011) (Anexo I).

As perspectivas para 2019/2020 na cultura do milho, a nível mundial, referem um ligeiro aumento da área de exploração agrícola, da produtividade e por conseguinte da produção total (FAPRI, 2010). Prevê-se que no futuro deverá haver um aumento tanto

do consumo de milho em geral como *per capita*, com tendência para níveis de stocks relativamente mais baixos do que o habitual e com preços de mercado relativamente constantes, podendo haver algumas variações significativas de ano para ano, consoante as condições climáticas predominantes nos principais locais de produção mundial (FAPRI, 2010).

A sanidade é um factor chave no sucesso da cultura do milho. O adequado controlo de infestantes, pragas e doenças ao longo do ciclo cultural é essencial para permitir um normal desenvolvimento das culturas. De entre a panóplia de infestantes e pragas que podem causar sérios prejuízos na cultura do milho, surgem como infestantes principais, a nível mundial, *Amaranthus* spp., *Chenopodium* spp., *Polygonum* spp., *Solanum nigrum* L., *Portulaca oleracea* L., *Xanthium strumarium* L., *Convolvulus arvensis* L., *Cyperus esculentus* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Datura stramonium* L., entre outras. Se as infestantes precisam de ser controladas nos primeiros estádios do ciclo cultural, já as pragas exigem uma maior atenção até à maturação do grão, sendo que os maiores prejuízos devem-se a *Agrotis* spp., *Agriotes* spp., *Mythimna unipuncta* (Haworth), *Spodoptera* spp., *Heliotis* spp., *Ostrinia nubilalis* (Hubner) e *Sesamia nonagrioides* (Fevebvre). Com igual importância ocorrem várias doenças na cultura do milho, causadas por fungos, bactérias e vírus. As doenças cujos agentes causais são fungos podem afectar diversas partes da planta de milho, tais como: folhas, colmos, raízes e órgãos reprodutivos (panícula e espiga) e sementes. Os principais patogénios foliares que limitam o potencial de rendimento são *Cercospora zea-maydis* Tehon & E. Y. Daniels, *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard & E. G. Suggs, *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wilson e *Kabatiella zea* Narita & Y. Hirats (Paul, 2007). A incidência e a severidade das doenças nas plantas dependem da presença de um agente virulento causador de doença (patogénio), susceptibilidade da cultivar (hospedeiro) e de condições edafoclimáticas favoráveis. O hospedeiro susceptível, o patogénio virulento e o ambiente favorável devem ocorrer simultaneamente para que a doença possa ocorrer (Agrios, 2005).

Em Portugal não se têm registado prejuízos generalizados no milho por problemas causados por doenças. Há, no entanto, que destacar, pela sua maior disseminação, o carvão ou morrão das inflorescências (causado por *Sphacelotheca reiliana* (J.G. Kühn) G.P. Clinton, a helmintosporiose (causada por *E. turcicum*) e fusariose (causadas por *Fusarium* spp.). Mais pontualmente, têm vindo a ocorrer infecções de ferrugens causada por *Puccinia sorghi* Schwein e apresentando sintomas semelhantes à fusariose vascular, a cefalosporiose, causada por *Cephalosporium* sp. (ANPROMIS, 2011).

A helmintosporiose manifesta-se nas folhas e por vezes nas brácteas da espiga e em condições e anos favoráveis ao desenvolvimento das epidemias, nas cultivares mais sensíveis, pode levar ao completo dessecamento das folhas antes da maturação do grão (Lima, 2004). O interesse em estudar a helmintosporiose, surgiu pelo facto de não existirem estudos sobre os prejuízos causados pela doença em Portugal, em anos anteriores registaram-se ataques mais ou menos graves nalgumas zonas de produção, o que faz com que seja considerada uma doença que deve ser tomada em consideração, quer em estudos de adaptação de cultivares, quer na gestão da cultura.

Os objectivos deste trabalho foram a avaliação do rendimento em grão de quatro cultivares de milho, quando colocadas em ambientes propícios ao desenvolvimento de *E. turcicum*, e ainda quais os efeitos dos diferentes tratamentos com fungicidas e adubação NPK ao longo do ciclo cultural.

A componente experimental inerente ao presente trabalho passou por duas fases, numa delas, realizaram-se inoculações em estufa com sete isolados de *E. turcicum*, no sentido de avaliar a susceptibilidade de quatro cultivares de milho. Noutra fase efectuaram-se dois ensaios de campo em dois locais distintos, com o intuito de avaliar o rendimento em grão de cada cultivar de milho em função da sua susceptibilidade de campo a *E. turcicum* e eficiência de diferentes tratamentos.

A presente dissertação encontra-se dividida em cinco capítulos. O capítulo 1 diz respeito ao capítulo em questão, sendo denominado de Introdução. No capítulo 2 faz-se uma revisão da bibliografia disponível sobre a helmintosporiose de milho causada por *E. turcicum*, ao nível do agente causal, do hospedeiro, da doença, dos diferentes meios de luta, das escalas de avaliação da doença e da importância da doença em Portugal. O capítulo 3 apresenta o material e métodos, com referência às inoculações realizadas em estufa, aos locais dos ensaios de campo, esquemas, dimensões, itinerários técnicos, condições climáticas, características gerais das cultivares de milho e metodologia para a avaliação da susceptibilidade à helmintosporiose. No capítulo 4 são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos ensaios de campo e ensaios de inoculações em estufa, de acordo com os factores em estudo. Por último, no capítulo 5, apresentam-se as conclusões dos resultados obtidos nos ensaios em termos gerais.

2. A helmintosporiose do milho causada por *Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs

A helmintosporiose do milho causada por *E. turcicum* (Ascomycota: Pleosporaceae) é uma das doenças mais generalizada e mais destrutiva na cultura do milho (Hooker & Perkins, 1980). É um fungo ascomiceta que apresenta especialização parasitária (Lima, 2004). Ocorre não só no milho como nalgumas outras culturas e infestantes.

Porém, *E. turcicum* foi inicialmente descrito por Passerini (1876) em Perma, Itália, que o considerou uma espécie do género *Helminthosporium* (*H. turcicum* Pass.). Posteriormente, Leonard & Suggs (1974), reclassificaram-no para o género *Exserohilum* (*E. turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs), considerando a proliferação simpodial dos conídios que mostravam o hilo fortemente protuberante. O seu teleomorfo foi encontrado mais tarde e Luttrell (1958) descreveu-o como uma espécie do género *Trichometasphaeria* (*T. turcica* Luttr.), vindo tempos depois Leonard & Suggs (1974) enquadrá-lo no género *Setosphaeria* (*S. turcica* (Luttr.) K.J. Leonard & Suggs).

A helmintosporiose do milho atribuída a *E. turcicum* foi detectada pela primeira vez nos Estados Unidos da América em 1878, em Nova Jersey, a que se seguiu em 1889 uma grave epidemia da helmintosporiose em Connecticut (Drechsler, 1923). Conhecida como 'Northern leaf blight' ou 'Turcicum leaf blight', ocorre principalmente do Este de Corn Belt para a costa atlântica, sendo também encontrada em zonas costeiras do Texas e da Flórida. Os prejuízos cresceram a partir de 1940, numa extensão limitada, e mais generalizadamente na década de 80 e início da década de 90 na Carolina do Norte (Carson, 1999). Pode-se dizer que o "boom" no interesse em estudar e relatar a helmintosporiose surgiu a partir da década de 80 e 90, com o aparecimento de novas e mais severas epidemias por todo o mundo.

2.1. Ciclo de vida de *Exserohilum turcicum*

O ciclo de vida do fungo da helmintosporiose, nas condições de produção de clima temperado, começa como micélio e conídio que hibernaram em resíduos de milho deixados na superfície do solo (Figura 2). Os conídios são elipsóides a obclavados, direitos a curvos, hilo protuberante, castanho-claros a castanho-oliváceos, 60(76-128)147 µm x 13(15-23)27 µm, 4(5-7)9-septados (Sivanesan, 1987).

Durante o tempo quente e húmido, no início do verão, conídios mantidos ou produzidos nos resíduos são transportados pelo vento ou chuva para as folhas

inferiores das plantas jovens de milho. A infecção primária por germinação de conídios ocorre quando a água permanece livre na superfície das folhas durante 6 a 18h e a temperatura permanece amena, entre 66 e 80 °F (18-27°C), período de humectação na qual surgem as condições favoráveis para o processo de infecção. As lesões desenvolvem-se dentro de 7-12 dias (Pioneer Hi-Bred Internacional, 2010a) e com condições meteorológicas favoráveis em menos de uma semana formam-se à sua superfície conidióforos e conídios. A propagação secundária entre plantas e campos vizinhos ocorre pela acção do vento e chuva, por disseminação dos esporos produzidos nos tecidos das folhas. Normalmente o processo de infecção é ascendente iniciando-se nas folhas inferiores progredindo posteriormente para as folhas superiores. Porém, em anos com severas epidemias as infecções podem começar pelo terço superior da planta. Por outro lado, em situações em que existam chuvas ou regas abundantes, a infecção pode iniciar-se a partir do topo da planta.

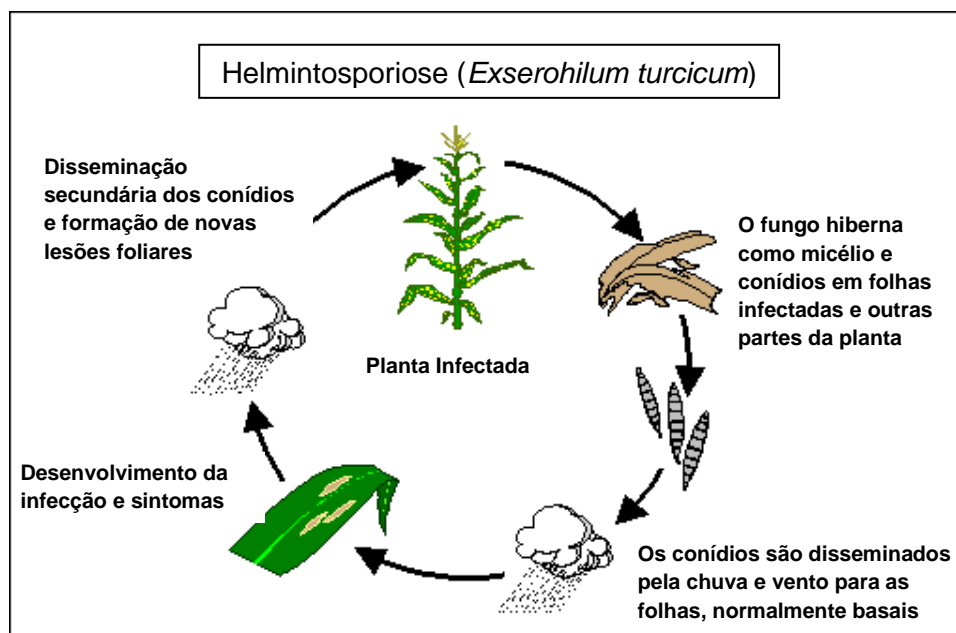


Figura 1. Ciclo de vida de *Exserohilum turcicum* no milho [Adaptado de Pioneer Hi-Bred Internacional (2002)].

A infecção ocorre pela penetração da hifa germinativa através de lesões ou por aberturas naturais, como os estomas. Após ocorrer a invasão, as células fúngicas são capazes de elaborar enzimas e ácidos orgânicos que têm a capacidade de desdobrar substâncias como celulose, açúcares, gorduras e proteínas, transformando-as em formas possíveis de serem assimiladas e utilizadas pelo fungo como fonte de energia para seu crescimento e reprodução. A remoção desses nutrientes, que seriam aproveitados pelo próprio hospedeiro, podem ser suficientes para levar a planta a expressar os sintomas característicos da helmintosporiose (Caligiorni *et. al*,1999).

O desenvolvimento da helmintosporiose é mais rápido do que outras doenças comuns do milho, tal como a cercosporiose, também esta de propagação mais rápida do que outras doenças (Butzen & Munkvold, 2004). É uma doença policíclica e o desenvolvimento da epidemia depende de esporulações de lesões anteriores (Ullstrup, 1966). Orvalho denso, frequentes chuvas fracas, elevada humidade relativa e temperaturas moderadas favorecem a propagação da doença.

2.2. Sintomatologia

Os sintomas de helmintosporiose ocorrem nas folhas e brácteas, através de manchas longas, elípticas, verde-acinzentadas, que podem variar entre 2,5 a 15 cm de comprimento, tornando-se visível o seu desenvolvimento uma a duas semanas após a infecção. As distintas lesões em forma de charuto são geralmente não limitadas pelas nervuras da folha, fazendo da helmintosporiose uma das doenças mais fáceis de identificar (Butzen & Munkvold, 2004). As lesões desenvolvidas podem adquirir uma coloração bronze, parecendo-se com queimaduras que dão aparência de ter sido derivado de uma geada. Períodos de névoa ou condições de elevada humidade, originam uma mudança da cor verde oliva escuro para negro, por aumento de esporulação na superfície das lesões (Sweets & Wright, 2008). Em condições de humidade elevada, as lesões produzem conídios cinza escuro, geralmente nas folhas inferiores da planta, dando à lesão um aspecto pulverulento. Com o aumento das lesões e sua coalescência, a área foliar afectada pode ocupar a quase ou totalidade da folha (Butzen & Munkvold, 2004), levando a reduções significativas na produtividade devido à falta de glúcidos disponíveis para encher o grão (Lipps & Mills, 2002).

2.3. O milho e outros hospedeiros

Segundo Mary Poll (2007) *cit. in* wikipédia, em trabalho publicado na revista Pnas, os primeiros registos do cultivo do milho têm cerca de 7 300 anos e foram encontrados em pequenas ilhas próximas do litoral mexicano, no golfo do México. De origem indígena caribenha, o seu nome significa "sustento da vida". Consumido pelos povos americanos desde o ano 5 mil a.C., o milho foi a base da alimentação de várias civilizações importantes ao longo dos séculos. Os Maias, os Astecas e os Incas reverenciavam o cereal na arte e religião e grande parte das suas actividades diárias eram ligadas ao seu cultivo (Abimilho, 2011). Na época das grandes navegações do século XVI, e com o início do processo de colonização da América, a cultura do milho expandiu-se para outras partes do mundo, sendo hoje cultivada e consumida em todos

os continentes (Abimilho, 2011).

2.3.1. Ciclo de Vida (Estádios de Desenvolvimento)

De acordo com a escala de desenvolvimento para a cultura do milho, da Iowa State University (Ritchie *et. al*, 1993), o desenvolvimento da planta de milho pode ser dividido em estádios vegetativos (V) e reprodutivos (R). O primeiro e o último estádios vegetativos são designados como VE (emergência) e VT (embandeiramento), respectivamente, sendo os estádios entre VE e VT designados como V1, V2, V3, até Vn, representando n a última folha antes do embandeiramento, variando esse valor com as características da cultivar e as diferenças ambientais. Durante a fase vegetativa, cada estágio é definido de acordo com a formação visível do colar na inserção da bainha da folha com o colmo. Assim, de cima para baixo, a primeira folha com o colar visível, é considerada completamente desenvolvida e contada como tal. Os estádios reprodutivos apresentam 6 subdivisões, identificadas numericamente, dizendo respeito, basicamente, ao desenvolvimento do grão e dos seus componentes. A descrição dos grãos dos estádios R2, R3 e R4 é extensível a todos os grãos da espiga, mas os grãos do terço médio da espiga devem ser a referência para qualificar o estágio. A descrição dos grãos dos estádios R5 e R6 referem-se a todos os grãos da espiga. A espiga de inserção mais alta de uma planta prolífica deve ser usada para classificar o estágio, a menos que seja especificamente desejado qualificar o estágio em função das espigas com inserções mais baixas. Na cultura do milho a divisão do ciclo em estádios distintos de desenvolvimento (V e R) permite o estabelecimento de relações entre a fisiologia da planta, o clima, os aspectos fitotécnicos e fitossanitários e a sua expressão no potencial da cultura. Os principais estádios de desenvolvimento vegetativo (V) e reprodutivo (R), são seguidamente descritos, de forma resumida:

- Estádio VE (Germinação e emergência)

Sob condições adequadas no campo, a semente absorve água e começa o seu crescimento. A radícula é a primeira a apresentar alongamento, a partir do grão entumecido, seguida pelo coleóptilo com a plúmula fechada (planta embrionária) e as três a quatro raízes seminais laterais. O estágio VE é finalmente atingido pelo rápido alongamento do mesocótilo, o qual empurra o coleóptilo em crescimento para a superfície do solo. A emergência da planta ocorrerá dentro de quatro a cinco dias após a sementeira, sob condições ideais de temperatura e humidade. Caso as temperaturas sejam demasiado baixas ou altas, podem ser necessárias duas ou mais semanas. Quando ocorre a emergência e se dá a exposição da ponta do coleóptilo à luz solar, o

alongamento do coleóptilo e do mesocótilo pára. As folhas embrionárias, que se estão desenvolvendo rapidamente, crescem através da extremidade do coleóptilo e o desenvolvimento da planta acima do solo inicia-se.

- Estádio V6 (Sexta folha)

No estágio V6, a região de crescimento e o pendão estão acima da superfície do solo, iniciando o colmo um período de grande alongamento. Abaixo da superfície do solo, o sistema radicular nodular é agora o principal sistema radicular em funcionamento. Nesta fase, numa planta dissecada, já são visíveis algumas inflorescências femininas por debaixo da folha que cresce a partir do mesmo nó. O afillamento (aparecimento de caules secundários) evoluem a partir de meristemas do primeiro nó, situado abaixo da superfície do solo, mas podem nunca apresentar desenvolvimento significativo. A degeneração e a perda das duas folhas mais baixas podem já ter ocorrido neste estágio.

- Estádio V9 (Nona folha)

Neste estágio, muitas inflorescências femininas (espigas) são facilmente visíveis pela dissecação de uma planta. A inflorescência feminina desenvolver-se-á a partir de cada um dos nós acima da superfície do solo, excepto os últimos seis a oito nós abaixo da panicula (bandeira). A evolução das inflorescências femininas de inserção mais baixa no colmo, fica mais comprometida relativamente a uma ou duas inflorescências femininas em posição superior na planta que se desenvolverão em espigas férteis. A panicula começa a desenvolver-se rapidamente e o colmo continua em rápido alongamento.

- Estádio VT (Embandeiramento)

O estágio VT inicia-se quando o último ramo da panicula está completamente visível e os estilos-estigmas ainda não emergiram (não são visíveis). O estágio VT começa aproximadamente dois a três dias antes da emergência das sedas, período durante o qual a planta de milho atingirá a sua altura total e iniciará a polinização, que se estenderá por uma a duas semanas. Durante este tempo, cada estilo-estigma deverá emergir para que a polinização e o desenvolvimento do grão ocorra. O período entre os estádios VT e R1 pode variar consideravelmente, dependendo das características genéticas da cultivar e das condições ambientais, sendo este o período em que a planta de milho é mais vulnerável aos danos causados por granizo, uma vez que a panicula e todas as folhas estão completamente expostos

- Estádio R1 (Floração)

O estágio R1 começa quando as sedas de qualquer estilo-estigma são visíveis fora da espiga. A polinização ocorre quando os grãos de pólen libertados caem num dos estilos-estigmas levando, cada grão de pólen a fertilizar o óvulo através do tubo polínico, num período aproximadamente de 24 horas. É no óvulo que ocorre a fertilização e a formação do grão, sendo determinante este período para o número de óvulos que serão fertilizados. Em geral, são necessários dois a três dias para que todos os estilos-estigmas de uma única espiga sejam expostos e polinizados. As sedas da espiga crescem cerca de 2,5 a 4,0 cm por dia e continuam a alongar-se até serem fertilizados.

- Estádio R2 (Grão leitoso de 10-14 dias após a floração)

Os grãos no estágio R2 são brancos externamente e lembram uma bolha na sua forma. O amido acumula-se no endosperma, que possui um abundante fluido interno de cor clara e o minúsculo embrião. Os grãos começam um período de rápido e constante acumulação de matéria seca ou de enchimento. Este rápido desenvolvimento dos grãos continuará até próximo do estágio R6. Os grãos apresentam cerca de 85% de humidade e o seu teor diminuirá gradualmente desde este período até a colheita. Embora o embrião tenha um desenvolvimento lento nesta fase, a radícula, o coleóptilo e a primeira folha embrionária já estão formados. Deste modo, dentro do embrião em desenvolvimento há uma miniatura de planta de milho em potencial.

2.3.2. Outros hospedeiros

A helmintosporiose causada por *E. turcicum* é uma doença foliar que pode atacar tanto o milho, como o sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) a erva do sudão (*S. sudanense* (Piper) Stapf), o sorgo bravo (*S. halepense*) ou o teosinto (*Zea* spp.) (Ullstrup, 1966 & Mazzani *et al.*, 1997).

2.4. Distribuição geográfica da helmintosporiose

A helmintosporiose do milho causada por *E. turcicum* é uma doença foliar de dispersão generalizada em todo o mundo (Figura 1). A incidência e a severidade da helmintosporiose variam de ano para ano e de uma localidade para outra, dependendo em grande parte da resistência genética das plantas e das condições ambientais verificadas (Carson & Van Dyre, 1994).



Figura 2. Distribuição geográfica da helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum* no milho (CIMMYT, 2010)

2.5. Prejuízos e quebras no rendimento de grão

Os problemas fúngicos no milho podem causar prejuízos que comprometem a produção final, tornando-a inviável em determinadas situações. A helmintosporiose causada por *E. turcicum* é uma importante doença do milho que se desenvolve nas folhas e por vezes nas brácteas da espiga, e em condições e anos favoráveis ao desenvolvimento das epidemias, nas cultivares mais sensíveis, pode levar ao completo dessecamento das folhas antes da maturação do grão (Lima, 2004).

No milho e outros cereais, as folhas superiores contribuem significativamente para a produção em grão (Hicks & Nelson, 1977; Sabba Rao *et al.*, 1989; Levy & Leonard, 1990; Bowen *et al.*, 1991). Levy & Leonard (1990) demonstraram que a primeira e a segunda folhas acima da espiga são as que mais contribuem para o rendimento em grão, e a sua remoção mecânica reduz o rendimento em cerca de 32%. Normalmente, as folhas inferiores são mais severamente infectadas por *E. turcicum* do que as folhas superiores (Levy & Leonard, 1990). A amplitude das quebras de rendimento em grão depende das fases de crescimento da planta quando ocorre a infecção, da severidade da doença e do nível de resistência do genótipo de milho (Perkins & Pedersen, 1987). Sob condições ambientais favoráveis (Hooker & Perkins, 1980; Abadi *et al.*, 1989; Levy, 1991), o início prematuro da helmintosporiose, normalmente entre a segunda e terceira semana depois do início da fase de enchimento do grão, origina severos prejuízos no rendimento em grão (Elliott & Jenkins, 1946; Ullstrup & Miles, 1957; Raymundo & Hooker, 1981). Ullstrup & Miles (1957) observaram reduções de rendimento em grão em cultivares susceptíveis entre 40 e 70%, quando a doença

ocorria entre a segunda e terceira semana depois do início da fase de enchimento do grão, enquanto o rendimento em cultivares tolerantes variavam entre 2 e 18%. Quando a infecção ocorre antes da floração, as perdas de rendimento podem ser superiores a 50% (Raymundo & Hooker, 1981; Perkins & Pedersen, 1987). A utilização de um modelo de regressão linear ou quadrático em milho doce, mostrou uma variação de 31 a 70% da quebra do rendimento em função da gravidade da helmintosporiose no momento da colheita (Pataky *et al.*, 1998). Se o início da doença é retardado até seis semanas após o espigamento, as quebras de rendimento em grão são mínimas. Tal quebra de rendimento resulta da diminuição da fotossíntese (menos glicose produzida) e do aumento da susceptibilidade a podridões do caule. Por causa da fotossíntese limitada, os açúcares no caule são translocados para a espiga e folhas, e o caule fica mais susceptível à invasão de organismos que decompõem o caule (Pioneer Hi-Bred Internacional, 2010b). Portanto, o posicionamento das folhas infectadas e o início da doença serão informação fundamental para estabelecer a relação doença/rendimento para alguns sistemas de infecção da doença (Lipps & Madden, 1989; Seck *et al.*, 1991).

A partir da década de 50 do século passado surgiram novos estudos em vários países sobre a helmintosporiose do milho, nos quais são referidos valores de severidade da doença (Quadro 1) e quebras de rendimento, na ordem dos 80% como foi o caso de Almora (Índia) relatado por Babu *et al.* (2004).

Quadro 1. Severidade da helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum* no milho em diferentes locais de produção.

País/Local	Severidade da doença (%)	Referências
E.U.A.	Até 50	Robert (1953)
Turquia	10 a 15	Atac (1984)
Northern Carolina (E.U.A.)	30 a 75	Leonard <i>et al.</i> (1985)
Southern Karnataka (India)	10 a 100	Pandurangegowda <i>et al.</i> (1989)
Austria	Epidemia	Zwatz (1988)
Uganda	Epidemia	Adipala <i>et al.</i> (1993)
Northern Karnataka (India)	Até 53,5	Harlapur <i>et al.</i> (2000)
Akola (Maharashtra, India)	12 a 39	Shivankar and Shivankar (2000)
Almora (Uttaranchal, Índia)	20 a 60	Babu <i>et al.</i> (2004)

Fonte: Adaptado de Harlapur (2005)

2.6. Meios de Luta

Predominantemente a maioria das doenças foliares varia de cultivo para cultivo e de

ano para ano, dependendo das condições ambientais, das práticas de cultivo, da sequência de culturas e da susceptibilidade da cultivar. Como referido anteriormente, a helmintosporiose causada por *E. turcicum* na presença de temperaturas moderadas e humidade na forma de chuva e/ou orvalho denso. As medidas de luta mais comuns são, a selecção de cultivares tolerantes, o uso preventivo de fungicidas foliares e as medidas culturais como a incorporação dos resíduos de colheita no solo e rotação de culturas.

2.6.1. Genética

A escolha de cultivares que possuam maior tolerância à helmintosporiose é uma estratégia fundamental na redução dos prejuízos desta doença. A resistência do milho à helmintosporiose pode ser do tipo geral, poligénica ou multigénica e específica ou monogénica. Há, pelo menos, sete raças fisiológicas de *E. turcicum* que são patogénicas para o milho, sendo distinguidas com base na sua patogenicidade em diferentes génotipos de milho com diferentes genes de resistência (CIMMYT, 2010). Até à data foram identificados quatro genes responsáveis pela resistência à helmintosporiose, sendo conhecidos como Ht1, Ht2, Ht3 e HtN. Os genes Ht1, Ht2, Ht3 e HtN conferem tolerância só para raças específicas do patogénio. A raça 0 de *E. turcicum* é avirulenta para todos os génotipos Ht enquanto a raça 23 é virulenta apenas nos génotipos Ht2 e Ht3 (CIMMYT, 2010).

A resistência poligénica ou não específica confere a tolerância a todas as raças de *E. turcicum*, pois a resistência não é absoluta para todas estas raças. Este tipo de tolerância é geralmente caracterizado por criar um ciclo de desenvolvimento da doença mais lento, com menos lesões e de menores dimensões (Pioneer Hi-Bred Internacional, 2010b). O tamanho da lesão, a forma e a cor, podem variar quando o gene de resistência está presente numa cultivar (Sweets & Wright, 2008). Porém, algumas cultivares podem ser especificamente tolerantes a uma doença, com resistência monogénica ou específica. Muitas vezes, este tipo de resistência é controlado por um único gene dominante. No entanto, existe um risco desse único gene de tolerância se tornar ineficaz devido a uma mudança na capacidade do patogénio para causar a doença. Tal mudança pode ocorrer por meio de mutação genética ou selecção de indivíduos dentro da população do patogénio, com capacidade de superar o gene da cultivar para a resistência (Stuckey *et al.*, 1993). Como tal, o resultado mais provável do uso continuado de cultivares com resistência monogénica será a selecção de novas raças de *E. turcicum* e a procura por uma série de novos genes para o seu controlo. A resistência monogénica é caracterizada pela

formação de lesões cloróticas, um atraso no aparecimento da necrose, e/ou esporulação reduzida. As manchas cloróticas de cor amarela visíveis nas folhas ao redor do local da infecção, não são tão grandes ou tão bem definidas como lesões necróticas e são encontradas em cultivares com maior tolerância à helmintosporiose (Pioneer Hi-Bred Internacional, 2010b). Ullstrup (1970) questionou a utilidade da resistência monogénica quando grandes quantidades de inóculo estão presentes numa área. Num teste de três anos, o rendimento médio das cultivares simples com resistência poligénica foi 961 kg/ha maior do que as cultivares simples que transportam resistência monogénica.

A utilização de resistência poligénica tem sido limitada pela dificuldade de transferir esta característica para linhas puras sem alterar o ciclo, a estabilidade, a humidade dos grãos na colheita, e outros factores. Dados analisados em estudos, sugerem que pesquisas futuras devem ser direccionadas no intuito de combinar resistência monogénica e poligénica para controlar a ocorrência e a propagação de *E. turcicum* (Hooker & Kim, 1973).

2.6.2. Química

A aplicação de fungicida pode efectivamente controlar *E. turcicum*, quando aplicado no momento certo. O calendário de pulverização deve começar quando a primeira lesão aparece na folha abaixo da espiga. Vários fungicidas estão disponíveis para uso no milho para o controlo da helmintosporiose causada por *E. turcicum*, quando aplicadas oportunamente, nas concentrações correctas e numa pulverização adequada (Lipps & Mills, 2002). Alguns fungicidas de contacto como o mancozebe e o clortalonil foram largamente utilizados mas actualmente a sua principal utilização é recorrente em programas de gestão de resistência com outros fungicidas mais recentes. Esses fungicidas mais recentes, como os da classe dos triazóis, entre outros, têm diferentes níveis de acção sistémica e alguma actividade curativa (Munkvold, 2006).

Avaliações à eficácia dos fungicidas, com observações feitas a partir dos 110 dias até à sementeira, maturação fisiológica, através de uma escala de avaliação da severidade de 1 a 5, mostraram que o tebuconazol era o mais eficaz no controlo do *E. turcicum* entre outros fungos (Pinto, 1997). Outro estudo efectuado por Rahman *et al.* (1993), com cinco fungicidas utilizados *in vitro* e em campo, mostrou que todos os fungicidas tiveram a capacidade de reduzir a severidade da helmintosporiose, contudo o fungicida que melhor controlou a doença, e ainda fez aumentar o rendimento, foi o propiconazol (Tilt 250 EC).

A aplicação foliar de fungicidas justifica-se apenas em cultivares susceptíveis e se as três folhas inferiores estiverem infectadas antes do embandeiramento até duas semanas após o embandeiramento (Stuckey *et al.*, 1993). Infelizmente, quando a infecção ocorre, a cultura está normalmente com um porte muito alto para um normal equipamento de pulverização poder efectuar a aplicação, e a aplicação aérea é cara. Assim, a aplicação de produto químico é normalmente recomendada antes do embandeiramento (Pioneer Hi-Bred Internacional, 2010a). Em períodos não favoráveis à helmintosporiose (estação fria e seca), a aplicação de fungicidas pode não ser particularmente rentável para a produção de grão (CIMMYT). O controlo químico pode ser muito atractivo em campos de alto valor, como o milho para a produção de sementes ou o milho doce (Schwartz & Gent, 2005).

É de referir, no entanto, que actualmente em Portugal não existem fungicidas homologados para o controlo da helmintosporiose na cultura do milho.

2.6.3. Medidas culturais e outros meios de luta

Recomendam-se práticas de mobilização que reduzam a quantidade de inóculo presente no campo, diminuindo-se, assim, o nível inicial de infecção ou a probabilidade do aparecimento da doença. Destroçar os resíduos sob qualquer forma de mobilização que possa incorporá-los no solo promove a sua decomposição e reduz a pressão do patógeno no início do ciclo cultural. Uma vez que os conídios se podem disseminar a longas distâncias, a redução do nível do inóculo num campo permite retardar a explosão da doença (Stuckey *et al.*, 1993).

Não só a incorporação dos resíduos, mas também a rotação de culturas permite reduzir os níveis de helmintosporiose. A rotação com uma cultura não hospedeira de helmintosporiose do milho, como a soja ou outra, ajuda a reduzir os níveis da doença, principalmente em cultivares susceptíveis (Lipps & Mills, 2002), uma vez que faz quebrar o ciclo de vida do patógeno, por não ter um hospedeiro que lhe permita completar o seu ciclo de vida (Paul, 2007). Mesmo assim, a rotação nem sempre é eficaz, porque os conídios de *E. turcicum* podem disseminar-se a partir de campos adjacentes (Stuckey *et al.*, 1993). No entanto, num sistema de monocultura do milho, especialmente em mobilização reduzida ou não mobilização (sementeira directa), os agentes patogénicos são preservados ano após ano, até atingirem níveis que causam prejuízos significativos no rendimento em grão e na sua qualidade (Paul, 2007).

Uma boa prática cultural consiste na eleição de cultivares adaptadas às condições existentes em densidades de sementeira ajustadas. Apesar de os estudos sobre a influência das densidades de sementeira na evolução da helmintosporiose não reunir

opiniões unânimes, Adipala *et al.* (1994) referem que o facto de terem observado altas severidades quando utilizadas elevadas densidades de sementeira se deveu ao microclima mais favorável que foi criado.

Outras práticas, como a fertilização equilibrada em função dos níveis nutricionais do solo e da cultura, reduzem a gravidade de algumas doenças (Stuckey *et al.*, 1993). O balanço nutricional é um factor importante para o controlo de pragas e doenças, conforme consta numa publicação de Iowa State University em 1993, que referindo um estudo de Jacobsen (1983) registava redução da severidade de helmintosporiose, antracnose, fusariose, entre outras. A gravidade de muitas doenças depende da fertilização azotada desequilibrada. Desse modo, a helmintosporiose, causada por *E. turcicum* é uma doença cuja incidência e gravidade são maiores quando se usa azoto sob a forma de nitrato (Soave & Moraes, 1987).

A resistência sistémica induzida (SIR) como método alternativo para o controlo de doenças pode constituir a uma solução promissora para a actividade agrícola em várias culturas (Tuzun *et al.*, 1986; Biles & Martyn, 1989; Cantone & Dunkle, 1990; Conti *et al.*, 1990). O mecanismo de resistência pode estar presente em plantas susceptíveis e a resistência sistémica ser induzida por substâncias inorgânicas simples ou produtos químicos orgânicos, sendo que esta resistência induzida não é específica (Mucharromah & Kuc', 1991). Estudos de Reuveni *et al.* (1993) revelaram que uma pulverização de fosfato aumentou o crescimento no pepino e induziu a protecção sistémica contra *Sphaerotheca fuliginea* (Schltdl.) Pollacci. Por outro lado, pulverizações NPK (principalmente em fósforo e potássio) reduziram o número e área de lesões de *E. turcicum* e número de pústulas de *Puccinia sorghi* no milho (Reuveni *et al.*, 1993). Segundo os mesmos autores, a resistência sistémica induzida contra a ferrugem comum e helmintosporiose foi obtida em folhas superiores das plantas de milho no estágio V7, como resultado de uma pulverização foliar de diferentes fosfatos nas primeiras 1 a 3 folhas após 2-4 horas antes da inoculação com suspensões de conídios.

A avaliação *in vitro* de agentes de controlo biológico como *Trichoderma harzianum* revelou que pode existir inibição de até 65% da esporulação de *E. turcicum* (Harlapur, 2005). O antagonismo de *T. harzianum* e outros bioagentes, observados por esse autor está em sintonia com relatos noutros estudos, como o de Mahamood *et al.* (1995) que relataram que *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. e alguns outros fungos não identificados foram altamente eficazes na inibição do crescimento micelial e esporulação de *E. turcicum* na cultura do milho.

As propriedades anti-fúngicas de alguns extractos botânicos têm sido estudadas por vários autores, sendo encontrada inibição de 100% no crescimento do micélio e na esporulação de *Helminthosporium* sp. por acção de *Allium cepa* L., *Ocimum sanctum* L., *Bougainvillea* sp. e *Ficus religiosa* L. (Shekhawat & Prasad, 1971). Por sua vez, Harlapur (2005) verificou que extractos de plantas inibiram o crescimento do micélio de *E. turcicum*, tendo extractos de semente de *Azadirachta indica* A. Juss. e de *Aloe vera* (L.) Burm sido aqueles que causaram maior inibição, 56,64% e 53,5%, respectivamente.

2.7. Escalas de avaliação da severidade da helmintosporiose

Através da consulta de estudos efectuados sobre doenças, pode-se perceber que existem vários tipos de escalas de avaliação da severidade da helmintosporiose, sendo neste caso preferível, aquelas que foram utilizadas na cultura do milho. Slopeck (1989) utilizou uma escala de 1-5 contendo categorias de 0 a 100%, em função da área foliar doente, e referiu ainda que em algumas situações as avaliações visuais podem ser mais valiosas. A escala de notas de Pinto e Fernandes (1995) para avaliação da incidência e severidade da helmintosporiose, é baseada na classificação de 0 a 5 (0= ausência de lesões; 1= lesões esparsas; 2= lesões em 50% das folhas e com 25% de severidade; 3= lesões em 75% das folhas e com 50% de severidade; 4= lesões em 100% das folhas e com 75% de severidade; e 5= lesões em 100% das folhas e com seca total das plantas). Outro caso, é a escala composta por 5 categorias numéricas, Payak & Sharma (1983), que define a susceptibilidade da cultivar em função do tipo de infecção evidenciada, de forma muito idêntica à anterior. Existe ainda uma escala da Pioneer Hi-Bred com uma classificação de 1 a 9 em função da percentagem de área foliar visualmente afectada pela helmintosporiose. Para Bleicher *et. al*, 1993, a melhor análise para distinguir os níveis de resistência entre cada ciclo da helmintosporiose, foi a percentagem de área foliar infectada.

2.8. Importância da helmintosporiose em Portugal

A helmintosporiose do milho é conhecida em Portugal de há longa data, sendo atribuída a dois patogénios: *Bipolaris maydis* (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoemaker e *Exserohilum turcicum*. Distinguem-se, em termos de sintomas, pelo tipo de manchas que originam nas folhas, pequenas (até 0,8 cm de comprimento), oblongas com extremidades arredondadas e lados paralelos em *B. maydis* e longas (entre 2,5 a 15 cm de comprimento), elípticas em *E. turcicum*.

Em meados da década de 90 do passado século, mais concretamente na zona do vale do Tejo, do vale do Mondego e ainda numa herdade próxima de Alcácer do Sal, a helmintosporiose causada por *E. turcicum* começou a assumir carácter epidémico nalgumas searas (Lima, comunicação pessoal). Em 1997, no vale do Mondego, surgiram relatos de vários agricultores, que registaram prejuízos consideráveis nas cultivares mais susceptíveis à helmintosporiose, em zonas mais afectadas pela doença. Através de associações, como a Associação de Jovens Agricultores de Portugal (AJAP) e a Associação de Consumidores de Portugal (ACOP) foram efectuadas exposições para as empresas comercializadoras de sementes de milho, no sentido de compensar agricultores que obtiveram quebras de rendimento em grão superiores a 50%, devido a infecções precoces de helmintosporiose causada por *E. turcicum*, confirmada pelo laboratório de fitossanidade da Direcção Regional de Agricultura da Beira Litoral (DRABL) (Salgueiro, comunicação pessoal). Ainda na década de 90 surgiram novos casos de helmintosporiose, no perímetro de rega de Mira, na região de Odemira. Desde então, começaram a surgir relatos de quebras de rendimento em grão associadas à helmintosporiose nestes locais, que atingiram os 25 a 30%, relativamente ao potencial inicial (Grifo, comunicação pessoal).

Informação publicada pela empresa Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, que efectua ensaios em variadíssimos locais do país, refere em ensaios de campo realizados em microparcelas com 2 a 3 repetições, entre 1997 e 1999 em Coimbra, (excepção para o ano 1998 por não ter aparecido a doença), que as cultivares mais susceptíveis à helmintosporiose, apresentaram em 1997 e 1999 uma redução no rendimento em grão de cerca de 1300 kg/ha e 300 kg/ha, respectivamente, quando comparadas com as cultivares mais tolerantes (Anexo IV A4 e A5). As diferenças existentes na severidade média das cultivares em 1997, de acordo com a escala da Pioneer Hi-Bred, variou entre 5 e 7, com limite mínimo 4 e limite máximo 8. As severidades médias das cultivares em 1999, variaram entre 5,3 e 6,8, com limite mínimo de severidade de 4 e limite máximo de 7. Os rendimentos em grão mais elevados foram obtidos pelas cultivares mais tolerantes à helmintosporiose com média 7 (resultado bom), enquanto as cultivares mais susceptíveis, ficaram-se pelas médias de severidade de 5 (resultado médio/baixo).

Publicações de resultados de ensaios de campo “side by side” sem repetições, efectuados pela empresa Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, entre os anos de 2004 e 2011 em Odemira (Anexo V), mostram existir diferenças de rendimentos em grão, na média dos oito anos superiores a 400 kg/ha quando comparadas uma cultivar

moderadamente tolerante a moderadamente susceptível com uma cultivar moderadamente susceptível. A severidade média das cultivares situou-se entre os 5,3 e os 6,9, com limite mínimo de severidade de 4 e limite máximo de 7.

3. Material e Métodos

O presente capítulo refere os materiais e os métodos utilizados na elaboração do trabalho experimental, sendo este dividido em três partes distintas: i) ensaios de campo sobre o comportamento de quatro cultivares de milho, quando colocadas em dois locais de produção sujeitas à presença da helmintosporiose, tendo-se efectuado diferentes tratamentos; ii) avaliação da susceptibilidade em estufa das mesmas cultivares, quando inoculadas com isolados de referência de *E. turcicum* e iii) tratamento estatístico utilizado para avaliação dos parâmetros em estudo, através da ANOVA com recurso ao teste de Tuckey para um nível de significância de 5%. A escolha dos locais para os ensaios de campo foi efectuada com base na presença endémica de helmintosporiose nos últimos anos, de acordo com resultados dos ensaios realizados em anos anteriores, nesses locais, pela empresa Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal.

3.1. Ensaios de Campo

3.1.1. Características gerais das cultivares

As cultivares de milho utilizadas neste trabalho experimental são obtenção da empresa Pioneer Hi-Bred, tendo a mesma cedido alguma informação relativa às cultivares em estudo como está referido em baixo, no quadro 2, contudo pode-se consultar no anexo VI, mais informação acerca destas cultivares, tais como: a tolerância a doenças e pragas e o potencial produtivo, entre outras.

3.1.2. Locais dos ensaios

Os ensaios de campo foram efectuados em Alfarelos (Figura 3), concelho de Soure, distrito de Coimbra (região da Beira litoral) (Coordenadas GPS: 40°9'54"N; 8°38'59"O e altitude: 24m) e em Longueira (Figura 4), concelho de Odemira, distrito de Beja (região do Alentejo litoral) (coordenadas GPS: 37°39'49"N; 8°45'42"O e altitude: 53m).



Figura 3. Localização do ensaio de campo realizado em Alfarelos.



Figura 4. Localização do ensaio de campo realizado em Longueira.

3.1.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi feito em blocos casualizados, com 3 repetições nos ensaios de campo de Coimbra e Odemira (Anexo VII e VIII respectivamente). Os ensaios decorreram durante a campanha de 2010, sendo utilizadas quatro cultivares de milho da empresa Pioneer Hi-Bred de acordo com o ciclo FAO, o tipo de cultivar e o tipo de susceptibilidade ao *E. turcicum* (Quadro 2).

Quadro 2. Características gerais das cultivares de milho em estudo.

Cultivares	Ciclo FAO	Tipo de cultivar	Comportamento de susceptibilidade a <i>Exherohilm turcicum</i>
PR34P88	500	Convencional	Moderadamente tolerante a moderadamente susceptível
PR34N43	500	Convencional	Moderadamente susceptível
PR35Y65	400	Convencional	Susceptível
PR35Y69	400	Bt Mon 810	Susceptível

A par da utilização de cultivares de milho com características seleccionadas em função dos parâmetros que se pretendem avaliar, aplicaram-se também seis tipos de tratamentos, durante os vários estádios de desenvolvimento da cultura do milho, que se encontram enumerados de seguida:

- Testemunha (sem tratamento);
- Adução NPK (Complezal 12-4-6 (Bayer Crop Science) e Humigel Plus 2-0-0 +4%CaO +2,2%MgO, adubo organomineral com extractos húmicos (Tecniferti) – representa três aplicações no estádio V9, V14 e R2;

- carbendazime + 23,2% (p/p) flusilazol 1 – representa uma aplicação do fungicida Enigma (Saptec), no estádio V9, com a seguinte formulação: 11,6% (p/p) carbendazime + 23,2% (p/p) flusilazol;
- tebuconazol 1- representa uma aplicação do fungicida Punch cs (Dupont), no estádio V9, com a seguinte formulação: 25,5% (p/p) tebuconazol;
- carbendazime + 23,2% (p/p) flusilazol 2 – representa duas aplicações do fungicida Enigma (Saptec), no estádio V9 e R2, com a seguinte formulação: 11,6% (p/p) carbendazime + 23,2% (p/p) flusilazol;
- tebuconazol 2- representa duas aplicações do fungicida Punch cs (Dupont), no estádio V9 e R2, com a seguinte formulação: 25,5% (p/p) tebuconazol;

As doses utilizadas de cada fungicida, Punch cs e Enigma, com as respectivas substâncias activas (Anexo IX) foram de 1 L/ha, para cada aplicação. Na adubação NPK, em cada aplicação utilizou-se em conjunto 1 L/hl de Humigel Plus 2-0-0 +4%CaO e +2,2%MgO e 0,4 L/hl de Complezal 12-4-6.

3.1.4. Dimensões dos ensaios

Utilizaram-se 72 talhões em cada local de ensaio (Figura 5), tendo cada talhão quatro linhas. A distância entre linhas foi de 0,75 m e o comprimento do talhão foi de 7,5 m, tendo cada talhão 22,5 m² e cada ensaio 1620 m². Para efeitos de observação e avaliação só foram consideradas as duas linhas centrais (11,25 m²/talhão), tentando minimizar o efeito de bordadura nas duas linhas exteriores.



Figura 5. Perspectiva lateral dos talhões dos ensaios de campo de Odemira.

3.1.5. Itinerário técnico nos ensaios

Ao nível do itinerário técnico adoptaram-se as técnicas e os procedimentos tidos como os mais adequados às características da exploração agrícola nos diferentes locais, efectuando-se avaliações culturais ao longo do ciclo cultural. Em anexo X, pode ser consultada a calendarização de todas as operações efectuadas tanto no ensaios de campo, como nos ensaios de inoculações em estufa.

3.1.5.1. Ensaio Coimbra

Preparação de solo e sementeira

No ensaio que decorreu em Coimbra a preparação de solo seguiu a seguinte ordem: grade disco pesada para incorporação do restolho, lavoura com charrua para reviramento do solo e por fim roto-fresa para maior fragmentação dos agregados, no sentido de preparar uma boa cama de semente. Estas operações de mobilização de solo ocorreram com cerca de um a dois dias de intervalo entre cada operação. A sementeira foi realizada no dia 24 de Maio de 2010, com um semeador de monogrão preparado para ensaios em micro parcelas.

Adubação

As adubações foram divididas em 3 fases: i) antes da sementeira aplicou-se cloreto de potássio de fundo, ii) à sementeira fez-se aplicação localizada do adubo binário 14-34-0 e iii) de cobertura utilizou-se o nitrolusal (27-0-0 +12%CaO) na fase V3, aplicando-se posteriormente na fase V9, o adubo Fertamid (33-0-0 +11%S) antes de se abrirem os sulcos de rega (Quadro 3).

Quadro 3. Adubos utilizados no ensaio de Coimbra.

Adubos	Unidades					
	N	P	K	S	Ca	Zn
Cloreto de Potássio (60%K + 45%Cl) – 120 kg/ha	0	0	72	0	0	0
14-34-0 + 1%Zn – 280 kg/ha	39,2	95,2	0	0	0	2,8
Nitrolusal 27 – 340 kg/ha	91,8	0	0	0	40,8	0
Fertamid 33 – 550 kg/ha	181,5	0	0	55	0	0
Total	312,5	95,2	72	55	40,8	2,8

Fitofármacos (Herbicida)

Relativamente à utilização de fitofármacos, fez-se apenas uma monda química com aplicação em pós-emergência de 1,8 L/ha de 4,4% (p/p) tembotriona + 2,2% (p/p) isoxadifene-etilo (Laudis), na fase V7, para controlo das infestantes presentes.

Rega

O sistema de rega utilizado foi por gravidade (sulcos), efectuando-se apenas 3 regas, nas fases V9, VT e R2, com o intuito de manter o solo à capacidade de campo, por um período o mais longo possível, não se tendo considerado a necessidade de mais regas até ao final do ciclo da cultura.

Colheita e separação dos grãos

A colheita efectuou-se de forma manual, tendo sido colocadas as espigas de milho de cada talhão numa saca. A separação dos grãos foi feita num descarolador manual.

3.1.5.2. Ensaio Odemira

Preparação de solo e sementeira

Em Odemira a preparação do solo fez-se com recurso a uma grade de discos para incorporação do restolho, passagem de escarificador de dentes para “rasgar” e descompactar o solo, seguida de duas gradagens cruzadas, para quebrar o mais possível os fragmentos, de forma a deixar o terreno em boas condições para iniciar a sementeira. A sementeira foi realizada no dia 27 de Maio de 2010 e, de igual modo, utilizou-se um semeador de monogrão preparado para ensaios de micro parcelas.

Adubação

As adubações realizadas foram divididas em 2 fases: i) utilização de adubos sólidos convencionais numa primeira fase de instalação da cultura e ii) adubos líquidos numa segunda fase. Na primeira fase aplicou-se o adubo convencional 8-24-24 de fundo antes da sementeira e posteriormente uma cobertura localizada com nitrolusal (27-0-0 + 12%CaO) no estágio V3 após observação visual de primeiros sinais de carência azotada, devido às condições meteorológicas menos favoráveis. Na segunda fase efectuaram-se coberturas com adubos líquidos desde o estágio V4 até VT (Quadro 4). Existiu um maior fornecimento nutricional, no ensaio de Odemira face ao ensaio de Coimbra, devido às maiores perdas potenciais por lixiviação no estágio inicial da cultura e à possibilidade de recurso à fertirrigação em macro-aspersão.

Quadro 4. Adubos utilizados no ensaio de Odemira.

Adubos	Unidades						
	N	P	K	S	Ca	Mg	Zn
8-24-24 – 370 kg/ha	29,6	88,8	88,8	0	0	0	0
Nitrolusal 27 – 280 kg/ha	75,6	0	0	0	33,6	0	0
Solução 4-12-6 + 4%MO + 1%Zn – 385 kg/ha	15,4	46,2	23,1	0	0	0	3,85
Solução 30N + 8%SO ₃ – 210 kg/ha	63	0	0	16,8	0	0	0
Solução 8-0-12 + 1% MgO – 550 kg/há	44	0	66	0	0	5,5	0
Solução 8-0-0 + 16% CaO – 70 kg/há	5,6	0	0	0	11,2	0	0
Solução 32N – 480 kg/ha	153,6	0	0	0	0	0	0
Total	386,8	135	177,9	16,8	44,8	5,5	3,85

Fitofármacos (Herbicidas)

No controlo das infestantes aplicou-se uma mistura com 0,75 L/ha de 9,1% (p/p) mesotriona (Callisto) e 1,2 L/ha de 4,17% (p/p) nicossulfurão (Samson). São ambos herbicidas pós-emergentes.

Rega

O sistema de rega utilizado foi de macro-aspersão (rampa pivotante circular), permitindo que as dotações de água e de nutrientes pudessem ser dadas de forma fraccionada, de acordo com as necessidades do ciclo cultural, as condições de solo e as condições climáticas.

Colheita

Neste ensaio foi possível efectuar-se a colheita com recurso a uma ceifeira-debulhadora de 2 linhas, preparada para colheita de ensaios em microparcelas.

3.1.6. Condições meteorológicas durante o período dos ensaios

Os dados climáticos utilizados foram os disponíveis das estações meteorológicas mais próximas dos locais onde se realizaram os ensaios, com uma distância máxima entre a estação meteorológica e os ensaios de campo de 20 km. No ensaio de Coimbra obtiveram-se os dados climáticos através da estação meteorológica da Escola Superior Agrária de Coimbra (Anexo XI), enquanto no ensaio de Odemira a informação foi disponibilizada pelo COTR, através da estação meteorológica do perímetro do Mira (Anexo XII). As condições meteorológicas registadas no período entre 2004 e 2011 em Odemira, podem ser consultadas no anexo XII, para o período entre 1997 a 1999 em Coimbra, não foi possível adquirir registos meteorológicos. As variáveis climáticas utilizadas foram: temperatura média do ar (média mensal) (Anexo XII A8), temperatura máxima do ar (média mensal) (Anexo XII A9), humidade relativa média (média mensal) (Anexo XII A10), velocidade do vento média (média mensal) (Anexo XII A11) e precipitação total (mensal) (Anexo XII A12).

3.1.7. Metodologia para avaliação da susceptibilidade das cultivares a *Exserohilum turcicum*

A avaliação da susceptibilidade das cultivares a *E. turcicum* incidiu no propósito estabelecido de “colher folhas de milho para servir de modelo de comparação” com a escala Pioneer “Scoring Northern Leaf Blight” que atribui pontuações de 1 a 9, correspondentes a percentagens de áreas foliares afectadas (Anexo XIII). Houve necessidade de ajustar a escala de pontuação devido às condições presentes nos ensaios de campo não terem sido as mais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Estas pequenas alterações efectuadas nas pontuações atribuídas foram definidas com base nos seguintes limites: **1** = 80% da área visual afectada e **9** = 0% da área visual afectada.

A recolha das folhas foi efectuada no estágio R5 (antes da maturação fisiológica). Todas as folhas colhidas em cada talhão pertenciam aos dois terços superiores das plantas, devido à importância da localização dessas folhas e ainda pela maior incidência da doença nessa mesma parte das plantas. Em cada talhão e apenas nas duas linhas centrais, retirou-se aleatoriamente uma folha por planta, perfazendo um total de dez folhas por talhão. As avaliações foram efectuadas apenas no ensaio de campo da Longueira, uma vez que em Alfarelos não houve sintomas da presença da helmintosporiose que permitisse a avaliação da sua severidade. A escolha do critério de avaliação da severidade da helmintosporiose, recaiu na escala de pontuação da Pioneer Hi-Bred, em detrimento de outras, devido à sua maior rigorosidade e

simplicidade na avaliação da doença.

3.1.8. Metodologias para avaliação de outros factores em estudo

3.1.8.1. Avaliação do rendimento em grão

A avaliação do rendimento em grão das cultivares foi feita com recurso a uma balança devidamente calibrada com capacidade de até 30 kg. No momento da pesagem retiravam-se amostras para determinação em estufa da humidade do grão, corrigindo-se posteriormente os rendimentos em grão à humidade base de 14%.

3.1.8.2. Avaliação do peso de 1000 grãos

Para ser possível a determinação do peso de 1000 grãos utilizou-se um equipamento específico para a contagem de vários tipos de sementes, entre elas sementes de milho, pertencente ao laboratório do Instituto Politécnico de Beja Escola Superior Agrária (IPB-ESA). Efectuou-se a pesagem de 1000 grãos de cada amostra numa balança de precisão.

3.1.8.3. Avaliação do peso específico

A determinação do peso específico (kg/hl) do grão colhido em cada talhão, foi feita com recurso a um medidor específico, vulgo 'citómetro'. O procedimento consistiu na colocação de grãos no depósito do medidor, de volume conhecido, que depois de se encontrar equilibrado (regulado com um peso e um nível), em posição horizontal, permitia uma correcta leitura do valor na escala da balança.

3.2. Avaliação da susceptibilidade das cultivares em condições controladas

3.2.1. Local do ensaio

O ensaio foi efectuado numa estufa do Instituto Superior de Agronomia (ISA) (coordenadas GPS: 38°42'26"N; 9°10'52"O e altitude de 48m) a 21 de Julho de 2010.

3.2.2. Preparação do ensaio

Foram utilizados tabuleiros, um para cada isolado a estudar, com substrato constituído por turfa negra misturada com areia, numa proporção de 1:3. As sementes foram colocadas a uma profundidade de cerca de 2 cm, semeando-se 10 sementes de cada cultivar por tabuleiro (as mesmas quatro cultivares utilizadas nos ensaios de campo).

Nos dias seguintes efectuaram-se regas com regularidade, de forma a permitir que o substrato estivesse sempre humedecido.

3.2.3. Isolados de *Exserohilum turcicum* inoculados e condições de inoculação

Foram utilizados sete isolados de referência da Micoteca do grupo de trabalho da Patologia Vegetal do ISA, para os quais os dados de passaporte constam no Quadro 5. Encontrando-se conservados a -20°C, foram reactivados em meio gelosado de batata dextrosada (PDA-Difco) e posteriormente colocados a crescer em meio gelosado (1,5% de Agar), numa estufa regulada para 25°C e com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de ausência de luz.

Quadro 5. Dados de passaporte dos isolados de *Exserohilum turcicum* utilizados na inoculação das cultivares de milho do ensaio.

Código do isolado	Origem	Data de isolamento	Hospedeiro
PR 700	São Miguel – Vila Franca do Campo	Out-92	<i>Zea mays</i>
PR 701	Coimbra - Montemor-o-Velho (Campo Pereira)	Nov-94	<i>Zea mays</i>
PR 712	V. Franca de Xira - V. Franca de Xira (Conchoso)	Set-97	<i>Zea mays</i>
PR714	Coimbra - Montemor-o-Velho (Ereira)	Out-97	<i>Zea mays</i>
PR 715	Coimbra - Montemor-o-Velho (Campo Pereira)	Out-97	<i>Zea mays</i>
Et Ch M 28.14*	Raça 23 N (Dr. Don Jeffers, Universtät Hohenheim, Stuttgart)		
Et Re M 1.26*	Raça 0 (Dr. Don Jeffers, Universtät Hohenheim, Stuttgart)		

* Isolados cedidos por Dr. Don Jeffers, Universtät Hohenheim, Stuttgart.

Para obtenção da suspensão de esporos, conídios que haviam sido formados no meio gelosado, durante 10 dias, foram separados dos conidióforos com auxílio de um pincel esterilizado, depois de se ter procedido à inundação da placa com água destilada esterilizada, à qual havia sido adicionada uma gota de “Tween 80”, na proporção de uma gota para 1000 ml de água. A suspensão de esporos foi depois filtrada através de duas camadas de gaze. Determinou-se, com a ajuda de um hemacitómetro, a concentração de esporos, procedendo depois ao seu acerto na suspensão de modo a obter-se $2,5 \times 10^4$ esporos/mL. Todas as plantas de cada tabuleiro, no estágio V6, foram inoculadas por pulverização com os sete isolados de *E. turcicum* (Quadro 5),

tendo a distribuição da suspensão de esporos sido feita até que as folhas se apresentassem perfeitamente molhadas.

Depois da inoculação as plantas foram colocadas na obscuridade durante 24 horas numa câmara de inoculação onde a humidade relativa foi mantida em cerca de 100%, através da utilização contínua de um humidificador ultra-sónico “Burg Compact”. Posteriormente, as plantas voltaram a ficar sujeitas às condições normais de cultura na estufa de campo onde a temperatura se manteve à volta de $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$, procedendo-se, após 8 dias, à avaliação dos resultados. A interacção fenotípica de resistência ou de susceptibilidade das diferentes cultivares inoculadas foi determinada com base na presença de lesões cloróticas ou necróticas e extensão destas últimas (Quadro 6).

Quadro 6. Tipos de sintomas observados nas cultivares de milho com isolados de *Exserohilum turcicum* e sua classificação em grupos de reacção (adaptado de Hooker, 1977).

Classe	Tipo de sintoma nas folhas inoculadas	Grupo de reacção
1	Lesões cloróticas e/ou pequenas lesões necróticas irregulares	R
2	Lesões necróticas alongadas, isoladas ou coalescentes, sem morte de folhas	MR
3	Lesões necróticas extensas e/ou coalescentes e morte de folhas	S

R – Resistente; MR – Moderadamente Resistente e S – Susceptível.

3.3. Tratamento estatístico

Para avaliação do comportamento das cultivares de milho nos ensaios de campo, recorreu-se à ANOVA para analisar os seguintes parâmetros em estudo: o rendimento em grão (humidade base 14%), peso 1000 grãos, peso específico e a severidade da helmintosporiose, de acordo com os locais, as cultivares e os tratamentos utilizados, com um erro de significância determinado pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$).

4. Resultados e Discussão

A apresentação dos resultados e sua respectiva discussão, foi dividida em três partes. Na primeira parte apresenta-se e discute-se os resultados obtidos nos dois locais dos ensaios de campo. Na segunda parte aborda-se apenas os resultados obtidos no ensaio de Odemira, uma vez que no ensaio de Coimbra a doença não se manifestou, derivado das condições meteorológicas presentes. A terceira e última parte deste capítulo, apresenta-se e discute-se os resultados obtidos nos ensaios de inoculações em estufa.

4.1. Comportamento das cultivares nos ensaios

4.1.1. Rendimento em grão

Numa cultivar de milho, o rendimento em grão à colheita dependerá da interacção entre os vários factores que influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas. Os principais factores que condicionam o crescimento das plantas estão relacionados com o solo e o clima, contudo são também preponderantes as características genéticas da planta e as técnicas de cultivo aplicadas.

Os quadros seguintes apresentam o conjunto dos resultados obtidos nos ensaios de campo de Coimbra e Odemira, cujo denominador comum é o rendimento em grão, em função dos vários parâmetros em estudo.

Quadro 7. Caracterização do rendimento médio em grão em função do local no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Local	Rendimento (kg/ha) *
Coimbra	16325,5 a
Odemira	15359,8 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

O quadro 7, mostra que existiram diferenças significativas de rendimento médio em grão entre os dois locais, na qual o ensaio de Coimbra produziu aproximadamente mais 1000kg/ha do que o ensaio de Odemira. Tal facto poderá ser explicado numa relação entre vários factores interligados que ocorreram no ensaio de Coimbra, como o não desenvolvimento da helmintosporiose, com as melhores condições edafoclimáticas que permitiram às cultivares expressar melhor o seu potencial produtivo, e ainda o número de plantas finais à colheita, ter sido superior. Os anexos XI e XII, mostram as diferentes condições meteorológicas ocorridas nos ensaios de

campo, estas condições foram um importante factor no aparecimento e severidade da doença durante o ciclo cultural. Em termos médios, as temperaturas máximas no ensaio de Coimbra foram bastante mais altas do que no ensaio de Odemira, registando os termómetros, entre os meses de Junho e Setembro, uma diferença aproximada de 4,4°C superior no ensaio de Coimbra, enquanto que as temperaturas médias foram superiores em aproximadamente 1,4°C no mesmo período. Quanto às médias da humidade relativa, o ensaio de Odemira registou uma diferença superior a 8% (69% no ensaio de Coimbra e 77% no ensaio de Odemira) relativamente ao ensaio de Coimbra. No ensaio de campo de Odemira, a média do número final de plantas, rondou as 67210 plantas/ha, enquanto que no ensaio de Coimbra, alcançou a média de 83167 plantas/ha, ou seja, existiram cerca de 16000 plantas/ha (+ 20%) a mais no ensaio de Coimbra. A densidade de sementeira efectuada nos dois locais foi a mesma, 85000 plantas/ha, contudo as piores condições de solo à sementeira pela elevada precipitação após sementeira, originaram uma significativa diminuição no número de plantas finais à colheita, no ensaio de Odemira. Bull & Cantarella (1993) referem que quando a população foi aumentada de 60000 para 80000 plantas/ha, os ganhos na produtividade atingiram 14%. Situação semelhante é apresentada num gráfico de população de plantas/ha relacionado com rendimento em grão, da Iowa State University (2001), que refere quebras de cerca de 7% no rendimento em grão, quando se passa de populações de 80000 plantas/ha para 65000 plantas/ha.

Quadro 8. Caracterização do rendimento em grão em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Cultivar	Rendimento (kg/ha)*
PR34N43	16389,3 a
PR34P88	15880,6 ab
PR35Y65	15678,7 ab
PR35Y69	15421,8 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Quanto ao comportamento das cultivares nos dois ambientes, constata-se no quadro 8, que existiram diferenças significativas no rendimento em grão entre as cultivares PR35Y69, com 15421,8 kg/ha e PR34N43, com 16389,3 kg/ha. De acordo com os ciclos FAO em ensaio, houve maior rendimento em grão nos ciclos mais longos (FAO 500), como seria de esperar, apesar de as diferenças entre a cultivar PR34P88 e as cultivares de FAO 400 não se revelarem significativas.

Ensaio efectuado em 1997 pela empresa Pioneer Hi-Bred, na zona de Coimbra (Anexo IV), mostram que existiram diferenças significativas no rendimento em grão entre as cultivares P7 (11067 kg/ha) e P6 (11983 kg/ha), de ciclo médio/precoce (FAO 400) e as cultivares P1 (14183 kg/ha), P2 (14183 kg/ha), P12 (14667 kg/ha) e P11 (15193 kg/ha), com o ciclo médio/longo (FAOs 500 e 600).

Quadro 9. Caracterização do rendimento em grão em função do tratamento no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Tratamento	Rendimento (kg/ha) *
Tebuconazol 2	16176,0 a
Tebuconazol 1	16155,6 a
Testemunha	15944,1 a
Adubação NPK	15826,2 a
Carbendazime + fluzilasol 1	15505,1 a
Carbendazime + fluzilasol 2	15448,4 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

A caracterização do rendimento das cultivares em função dos tratamentos, encontra-se reportada nos quadros seguintes. O quadro 9, mostra que os tratamentos utilizados em ambos os ensaios de campo, não influenciaram o rendimento em grão de forma significativa. Contudo é mais relevante a análise do rendimento em função dos tratamentos no ensaio de Odemira (4.2.1), uma vez que nesse ensaio houve infecções de helmintosporiose, e os maiores rendimentos em grão se manifestaram nos tratamentos com o tebuconazol.

4.1.2. Peso de 1000 grãos e Peso Específico

Segundo Baudet & Misra, 1991 e Luiz e Magro, 2007, que o peso de 1000 grãos e o peso específico são parâmetros considerados importantes na avaliação de atributos físicos de qualidade de grão. Normalmente valores altos, de peso de 1000 grãos e peso específico numa cultivar, significam qualidade de grão da cultivar, apesar destes parâmetros não terem uma relação directa com os rendimentos em grão mais elevados.

Os quadros seguintes apresentam o conjunto dos resultados obtidos nos ensaios de Coimbra e Odemira, sendo nos primeiros quadros o denominador comum o peso de 1000 grãos e nos restantes quadros o denominador comum o peso específico, todos em função dos vários parâmetros em estudo.

Quadro 10. Caracterização do peso de 1000 grãos em função do local no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Local	Peso de 1000 Grãos (g) *
Odemira	406,6 a
Coimbra	385,9 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

No quadro 10, apresenta-se a média do peso de 1000 grãos do conjunto das cultivares nos dois locais de estudo, havendo diferenças significativas entre Coimbra, com 385,9 g, e em Odemira, com 406,6 g. Esta situação poderá estar relacionada com os diferentes factores que condicionaram o período de enchimento do grão, tais como a melhor distribuição da rega efectuada por rampa rotativa, a menor população de plantas à colheita e ainda os níveis mais elevados e melhor distribuição de adubação NPK ao longo do ciclo cultural no ensaio de Odemira. Já Júnior *et al.* (2007) concluíram que o peso de 1000 grãos aumentava, significativamente, à medida que se aumentavam as doses de NPK, o que se explica pelo aumento nutricional. Faccioni & Viecelli (2009), publicaram um estudo que quando se aumentava a população de plantas, diminuía-se o peso dos grãos e aumentava-se o número de plantas anormais e quebradas.

Quadro 11. Caracterização do peso específico em função do local no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Local	Peso Específico (kg/hl) *
Coimbra	69,8 a
Odemira	69,3 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

No quadro 11 pode observar-se pelos resultados apresentados que não existiram diferenças significativas entre a média do peso específico das cultivares, nos dois locais em estudo, ou seja, estes resultados mostram que as mesmas cultivares colocadas em ambientes diferentes não variaram o seu peso específico. Apesar de factores como o solo e clima poderem afectar o peso específico, é principalmente a componente genética que influencia as cultivares.

O peso de 1000 grãos e o peso específico, sendo atributos físicos de qualidade de grão, têm uma relação intrínseca com a genética da cultivar, apesar de poderem existir factores externos que condicionem estes atributos.

Quadro 12. Caracterização do peso de 1000 grãos em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Cultivar	Peso de 1000 Grãos (g)*
PR35Y69	405,6 a
PR34N43	396,3 ab
PR35Y65	391,6 b
PR34P88	391,5 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Quadro 13. Caracterização do peso específico em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Cultivar	Peso Específico (kg/hl) *
PR34N43	70,11 a
PR35Y69	70,07 a
PR35Y65	70,03 a
PR34P88	68,00 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Através dos quadros 12 e 13, é evidente que a cultivar PR34P88 apresenta valores inferiores às restantes cultivares, tanto no peso de 1000 grãos como no peso específico. Relativamente ao peso de 1000 grãos a cultivar PR35Y69 foi a que apresentou o valor mais elevado, com 405,6 g, diferindo significativamente das cultivares PR34P88 e PR35Y65, sendo esta última a cultivar convencional que originou a cultivar PR35Y69 (Gene Bt). Essa diferença estatística entre as duas versões da mesma cultivar pode estar relacionado com a melhor sanidade geral apresentada pela cultivar com o gene Bt, principalmente ao nível dos colmos e na espiga, devido à quase inexistente presença de pragas, e ainda da menor incidência de patogénios (em especial *Fusarium* sp., no colmo, e *Aspergillum* sp. e *Penicillium* sp., nas espigas). Quanto ao peso específico, a cultivar PR34N43 obteve o resultado mais elevado, com 70,11 kg/hl, apesar de não terem existido diferenças significativas com as cultivares PR35Y65 e PR35Y69. Neste parâmetro só o PR34P88 obteve o valor mais baixo (68,00 kg/hl), existindo diferenças significativas para as restantes cultivares.

Os quadros 14 e 15, mostram a não influência dos seis tratamentos efectuados nos dois locais, ao nível do peso de 1000 grãos e do peso específico, respectivamente, podendo-se observar que não houve nenhum tratamento que apresentasse diferenças significativas, para ambos os parâmetros.

Quadro 14. Caracterização do peso de 1000 grãos em função do tratamento no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Tratamento	Peso de 1000 Grãos (g) *
Carbendazime + fluzilasol 2	402,0 a
Tebuconazol 2	400,4 a
Tebuconazol 1	397,7 a
Carbendazime + fluzilasol 1	396,6 a
Adubação NPK	391,5 a
Testemunha	389,3 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Apesar de não existirem diferenças significativas, no peso de 1000 grãos quando confrontado com os diferentes tratamentos (Quadro 14), pode-se constatar que existe uma lógica na ordem com que se apresentam os valores de peso de 1000 grãos em relação ao tipo de tratamento. Podemos dividir o quadro em três grupos quanto à ordem de grandeza. O primeiro grupo representa a testemunha e a adubação NPK com os valores mais baixos, o segundo grupo os tratamentos com fungicidas só com uma aplicação com valores intermédios, e o terceiro grupo com valores mais altos, com os tratamentos com fungicidas aplicados duas vezes.

Quadro 15. Caracterização do peso específico em função do tratamento no conjunto das cultivares e tratamentos dos ensaios.

Tratamento	Peso Específico (kg/hl) *
Adubação NPK	70,08 a
Tebuconazol 2	69,77 a
Carbendazime + fluzilasol 1	69,48 a
Tebuconazol 1	69,44 a
Carbendazime + fluzilasol 2	69,33 a
Testemunha	69,21 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Quanto ao peso específico (Quadro 15), os valores são todos muito idênticos, não existindo nenhuma relação entre tratamentos. De acordo com os resultados obtidos para o local (ambientes) e também para os diferentes tratamentos, não existiu influência sobre o peso específico.

A análise mais pormenorizada dos resultados estatísticos referentes ao peso de 1000 grãos e ao peso específico, pode ser consultada em anexo. Acerca do peso de 1000 grãos (Anexo XIV, quadro A14), os dados mostraram existir diferenças significativas entre as cultivares PR34P88, PR35Y65 e PR35Y69 em cada local de estudo, ou seja, apenas não houve diferenças significativas entre o peso de 1000 grãos na cultivar PR34N43 entre Odemira e Coimbra. Quando analisados os resultados obtidos para o peso de 1000 grãos e os tratamentos em cada local (Anexo XIV, quadro A15), constata-se que nos ensaios em Coimbra, apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos, também não existiu nenhuma ordem lógica na apresentação dos resultados, devido à ausência da helmintosporiose. Ao contrário, no ensaio de Odemira, existe uma ordem lógica na eficácia dos tratamentos apresentados, existindo diferenças significativas entre o tratamento Carbendazime + flusilazol 2 (duas aplicações) e os restantes tratamentos, confirmando a maior eficácia do tratamento no controlo da doença, reduzindo a área foliar afectada pela doença, consequentemente menor afectação da capacidade fotossintética com maior transferência de fotoassimilados para o grão. Quanto ao peso de 1000 grãos a interacção entre as cultivares e os tratamentos (Anexo XIV, quadro A16), apenas revelou diferenças significativas entre a cultivar PR35Y65 com o tratamento Testemunha (382 g) e a cultivar PR35Y69 com o tratamento Carbendazime + flusilazol 2 (416 g).

No que diz respeito ao peso específico, anexo XV, podem-se constatar diferenças significativas tanto entre as cultivares como entre os locais. Em Coimbra, a cultivar PR35Y69 obteve um peso específico de 70,97 kg/hl, existindo diferenças significativas face ao peso específico obtido em Odemira (69,56 kg/hl) (Anexo XV, quadro A18 e A21). No ensaio de Odemira, o peso específico obtido na cultivar PR34P88 com tratamento Carbendazime + flusilazol 1, foi significativamente mais baixo do que na cultivar PR34N43 com o mesmo tratamento (Anexo XV, quadro A19 e A20). Os tratamentos NPK atingiram melhores resultados no peso específico do que os restantes tratamentos, destacando-se os resultados no ensaio de Coimbra, com as cultivares PR35Y65 (71,17 kg/hl) e PR35Y69 (71,83 kg/hl), contudo não existiram diferenças significativas.

4.1.3. Severidade da helmintosporiose

No ano de 2010 não existiram sintomas de infecções de helmintosporiose causada por *E. turcicum* nas folhas das plantas de milho, contudo ensaios efectuados pela empresa Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, em 1997 e 1999, registaram a presença da doença, através de uma escala de avaliação da sua severidade, nos campos agrícolas do vale do Mondego (Coimbra), perto do local dos ensaios de 2010, como apresentado em anexo IV.

Através do Anexo IV, pode-se confirmar que em Coimbra, os valores de rendimento em grão das cultivares de milho foram superiores nos ensaios de 1999, quando comparados aos ensaios realizados em 1997. O índice de severidade da helmintosporiose entre 1997 e 1999 foi idêntico, de acordo com a escala de pontuação da Pioneer Hi-Bred, existindo uma menor afectação no rendimento em grão devido a diferentes factores, principalmente, ao momento do ciclo cultural para a qual ocorre o período de infecção da helmintosporiose. As condições de infecção precoce, e continuidade da infecção em períodos críticos das culturas são aspectos chaves, que tem repercussão no rendimento em grão das cultivares.

A fraca correlação dos resultados obtidos nos ensaios de campo de 1997 e 1999, quando analisado o rendimento em grão e a severidade da helmintosporiose nas cultivares (Anexo XVI, quadro A22), com 0,22 e 0,28 respectivamente, indicando que o facto de uma cultivar ter obtido um rendimento em grão mais alto, não significa que esta tenha maior tolerância à helmintosporiose, pois o seu potencial genético poderá ser diferente. Contudo nos ensaios de campo de 1997, onde os efeitos da doença foram menos agressivos comparado com os resultados de 1999, é de salientar que as cultivares P11 e P12 obtiveram os melhores resultados de rendimento em grão com correspondência na tolerância à helmintosporiose, onde ambos obtiveram o segundo valor mais alto (7,0), na escala de pontuação da Pioneer Hi-Bred, confirmando assim a sua boa tolerância de campo à helmintosporiose.

4.2. Comportamento das cultivares no ensaio de campo de Odemira

4.2.1. Rendimento em grão

Os quadros seguintes apresentam os resultados obtidos no ensaio de campo de Odemira, cujo denominador comum é o rendimento em grão, em função dos dois parâmetros (cultivares e tratamentos) em estudo.

Quadro 16. Caracterização do rendimento em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Cultivar	Rendimento (kg/ha) *
PR34N43	16700,2 a
PR35Y65	15218,9 b
PR34P88	14887,2 b
PR35Y69	14632,8 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

No quadro 16 pode-se observar que os rendimentos médios em grão obtidos pelas cultivares, mostraram existir diferenças significativas entre a cultivar de milho PR34N43, com 16700 kg/ha, e as restantes cultivares, que obtiveram um rendimento médio em grão inferior mas idêntico entre elas.

De acordo com publicações de ensaios efectuados pela empresa detentora das cultivares em estudo, na região de Odemira entre 2004 e 2011 (Anexo V), em média, a cultivar PR34P88 obteve um rendimento em grão ligeiramente superior à cultivar PR34N43, contrastando com os resultados obtidos no presente estudo. Contudo deve ser tido em conta, que as populações de plantas à colheita, em média, foram diferentes, mais altas na cultivar PR34N43, com 74420 plantas/ha (cerca de mais 7000 plantas/ha do que a média do ensaio, na qual a média do ensaio foi de 67210 plantas/ha). Esta diferença na população de plantas à colheita, pode estar relacionada com a maior adaptabilidade desta cultivar, quando sujeita a condições edafoclimáticas menos favoráveis à emergência. É de referir ainda, que quando analisadas as condições meteorológicas entre 2004 e 2011 em Odemira (Anexo XII), estas mostraram ter uma relação com as médias dos rendimentos em grão. Tal situação, observada no anexo V, mostrava que nos anos de 2008 e 2011 os rendimentos em grão foram mais baixos, consequência das condições meteorológicas menos favoráveis. As temperaturas médias e máximas mais baixas e as humidades relativas mais altas foram condições menos favoráveis e anormais no desenvolvimento das plantas e que favorecem o aparecimento de doenças. A cultivar PR35Y69 obteve um rendimento em grão inferior a todas as outras cultivares em estudo, inclusive quando comparada com a sua versão convencional, PR35Y65. Os factores que poderão ter condicionado o rendimento em grão da cultivar PR35Y69, serão discutidos posteriormente.

Quadro 17. Caracterização do rendimento em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Tratamento	Rendimento (kg/ha) *
Tebuconazol 1	15819,4 a
Tebuconazol 2	15661,9 a
Adubação NPK	15304,2 a
Testemunha	15245,1 a
Carbendazime + fluzilasol 1	15116,1 a
Carbendazime + fluzilasol 2	15012,0 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Tanto na avaliação dos tratamentos em função das cultivares no conjunto dos ensaios de Coimbra e Odemira (4.1.1), como na avaliação do rendimento em função dos tratamentos no ensaio de Odemira, os resultados não apresentaram diferenças significativas (quadro 17). Ainda assim os rendimentos em grão indicaram que os tratamentos com o fungicida tebuconazol, com uma e duas aplicações, foram cerca de 500 kg/ha superiores à média dos tratamentos do ensaio, situação inversa nos tratamentos com carbendazime + fluzilasol que obtiveram um rendimento em grão inferior à Testemunha. Se efectuar-se um exercício de viabilidade económica dos diferentes tratamentos para este estudo, pode-se referir que com base na média da cotação do preço do milho para grão em Portugal no ano de 2010, cerca de 200 €/tonelada, com um custo por aplicação (inclusive fungicida), de cerca de 60 € para o tebuconazol e de 65 € para o carbendazime + fluzilasol, apenas o tratamento com tebuconazol, com uma aplicação (mais de 300 kg/ha) e duas aplicações (mais de 600 kg/ha), poderia compensar realizar, com uma margem mínima de benefício.

4.2.2. Peso de 1000 Grãos e Peso Específico

Os quadros seguintes apresentam os resultados obtidos no ensaio de Odemira, para o qual o denominador comum é o peso de 1000 grãos nos primeiros quadros, e nos restantes quadros o denominador comum é o peso específico. Estes parâmetros foram avaliados em função das cultivares e dos tratamentos.

Como pode-se observar no quadro 18, o peso de 1000 grãos não diferiu significativamente entre as cultivares. Contudo é de notar que a cultivar que apresentou o valor mais alto no peso de 1000 grãos foi a cultivar PR35Y69 com 418 g, cultivar esta que no conjunto dos dois ensaios de campo, tinha obtido diferenças

significativas quando comparado com duas cultivares (PR34P88 e PR35Y65). Este comportamento ao nível do peso de 1000 grãos da cultivar PR35Y69, em ambos os ensaios, poderá estar relacionada com a capacidade da planta expressar a sua maior defesa contra as principais pragas da cultura e conseqüentemente ter a menor incidência de fungos ao nível da espiga. Pois, constata-se aquando da avaliação do peso de 1000 grãos que o aspecto visual dos grãos foi superior na cultivar PR35Y69, devido a uma menor incidência de grãos ardidos. Curiosamente, foi a cultivar que obteve o menor rendimento em grão, com 14.632,8 kg/ha.

Quadro 18. Caracterização do peso de 1000 grãos em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Cultivar	Peso de 1000 Grãos (g) *
PR35Y69	418,0 a
PR34N43	403,9 a
PR35Y65	403,2 a
PR34P88	401,1 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

O quadro 19, mostra que a cultivar PR34P88 obteve um resultado significativamente inferior de peso específico, quando comparado com a cultivar PR34N43 e PR35Y65. A cultivar PR34N43 conseguiu atingir na média dos ensaios, não só o maior peso específico, como também o segundo maior peso de 1000 grãos e ainda o maior rendimento em grão face às restantes cultivares, comprovando a sua rusticidade, fruto da sua maior capacidade de compensação dos componentes da produção em situação de ambientes mais adversos. Trata-se de uma cultivar com boa qualidade de grão, tanto referenciado pela empresa que comercializa a cultivar como pela indústria de griz (matéria-prima para a indústria alimentar).

Quadro 19. Caracterização do peso específico em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Cultivar	Peso Específico (kg/hl) *
PR34N43	70,6 a
PR35Y65	69,6 a
PR35Y69	69,2 ab
PR34P88	67,9 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Quanto ao peso de 1000 grãos, os resultados do quadro 20, mostraram que houve uma diferença significativa entre os tratamentos, Adubação NPK e Testemunha, ambas com um peso médio de 395,5 g, quando comparados com o tratamento Carbendazime + flusilazol 2, que obteve em média 420,7 g. Como tal, significa que existiu efectivamente uma maior eficácia quando efectuada a segunda aplicação de fungicidas no estágio R2, principalmente no tratamento Carbendazime + flusilazol. A maior eficácia do tratamento contribuiu para o aumento generalizado do peso de 1000 grãos nas diferentes cultivares. O conjunto dos resultados do peso de 1000 grãos dos ensaios de campo de Coimbra e Odemira (4.1.2), referentes aos tratamentos já mostravam existir uma ordem lógica na sua disposição. Os resultados do peso de 1000 grãos mostraram que nas circunstâncias do ano de 2010, existiram diferenças entre as cultivares que estiveram na presença da helmintosporiose e de forma diferenciada consoante os número e tipo de tratamentos utilizados.

Quadro 20. Caracterização do peso de 1000 grãos em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Tratamento	Peso de 1000 Grãos (g) *
Carbendazime + fluzilazol 2	420,7 a
Tebuconazol 2	413,5 ab
Carbendazime + fluzilazol 1	408,7 ab
Tebuconazol 1	405,5 ab
Adubação NPK	395,5 b
Testemunha	395,5 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Quadro 21. Caracterização do peso específico em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Tratamento	Peso Específico (kg/hl) *
Tebuconazol 2	69,9 a
Adubação NPK	69,9 a
Tebuconazol 1	69,3 a
Testemunha	68,9 a
Carbendazime + flusilazol 2	68,9 a
Carbendazime + flusilazol 1	68,8 a

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Relativamente ao peso específico, a variação dos diferentes tratamentos efectuados permite observar, de acordo com o quadro 21, que não existiram diferenças significativas entre os tratamentos, o que significa que os tratamentos não influenciaram o peso específico.

4.2.3. Severidade da helmintosporiose

A severidade da helmintosporiose observada no campo, foi moderada. Esta moderada afectação está relacionada, principalmente, com as condições meteorológicas menos favoráveis para o desenvolvimento e propagação da doença, uma vez que as temperaturas diárias durante o período de infecção foram mais elevadas do que o normal. A figura 6, mostra os tipos e tamanhos de lesões observados nos talhões do ensaio de campo de Odemira, sendo as lesões de dimensões variáveis, com coloração acastanhada. As primeiras lesões observadas no campo tinham uma coloração esverdeada, nas cultivares mais susceptíveis, PR35Y65 e PR35Y69.



Figura 6. Lesões nas folhas de milho causadas por *E. turcicum* no ensaio de campo de Odemira.

De acordo com os registos recolhidos na estação meteorológica do perímetro de rega do Mira, para os meses de Julho e Agosto (Anexo XII), as temperaturas médias e máximas para o ano de 2010, foram consideravelmente mais elevadas do que a média dos últimos sete anos, em especial durante as fases mais críticas do ciclo da cultura, no período de duas a três semanas antes e depois do estágio VT. Quando analisadas as condições meteorológicas nos dois anos em que as temperaturas foram as mais baixas e as humidades relativas as mais altas, anos 2008 e 2011, podemos observar diferenças nos meses de Julho e Agosto de quase 2°C nas temperaturas médias, de cerca de 3°C nas temperaturas máximas e de 5 a 6% nas humidades relativas médias,

sendo que a maior diferença ocorreu no mês de Agosto. Aliado a temperaturas mais elevadas, humidades relativas mais baixas, ausência de precipitação e ventos mais fracos, fez com que em 2010 as infecções precoces nos estádios críticos do ciclo cultural não ocorressem. Os primeiros sintomas da helmintosporiose causada pelo *E. turcicum* só foram identificados em meados de Setembro, pelas manchas longas verde-acinzentadas e acastanhadas com dimensões variáveis ao longo das folhas. Logo, foram cerca de cinco semanas depois do estágio VT. Sabendo que o início da floração ocorreu na primeira semana de Agosto, significa que as infecções ocorreram mais tardiamente, não afectando significativamente o rendimento em grão. Os anexos X e XII mostram que as primeiras infecções só ocorreram a partir do mês de Setembro, quando se reuniram as condições mais favoráveis de temperatura e humidade para o processo de infecção. Mesmo com uma severidade maior, a quebra de rendimento em grão provocado pelo aparecimento da doença não seria significativa face ao adiantado estágio de desenvolvimento da cultura.

Quadro 22. Caracterização da severidade da helmintosporiose em função da cultivar no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Cultivar	Severidade *
PR34P88	5,39 a
PR34N43	5,00 ab
PR35Y65	4,56 b
PR35Y69	4,53 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Nas médias observadas no quadro 22, verifica-se que a cultivar PR34P88 mostrou-se mais tolerante à helmintosporiose, com uma pontuação de 5,39, existindo diferenças significativas face as cultivares PR35Y65 (4,56) e PR35Y69 (4,53). Na cultivar PR34N43 a severidade foi intermédia no conjunto da média dos talhões do ensaio comparada com as restantes cultivares, com uma pontuação de 5,0. Estes resultados evidenciam os diferentes níveis de tolerância das cultivares na presença da helmintosporiose causada por *E. turcicum*, comportamento este previsível face à informação técnica das cultivares.

Quando analisados os valores médios de severidade da helmintosporiose nos talhões sem tratamentos (testemunha), quadro 23, os resultados obtidos são muito idênticos aos anteriores, onde uma vez mais a cultivar PR34P88 continuou a ser a cultivar com maior tolerância à helmintosporiose causada por *E. turcicum*. A cultivar PR35Y65

(4,17) obteve um resultado ligeiramente superior à cultivar PR34N43 (3,83), ficando mais uma vez a cultivar PR35Y69 (gene Bt), com o resultado mais baixo do ensaio, traduzindo a sua maior susceptibilidade à helmintosporiose. Os quadros 22 e 23, mostram ainda que os tratamentos tiveram melhor eficácia na prevenção a *E. turcicum* em todas as cultivares, com excepção para a cultivar PR34P88 que obteve uma maior pontuação no tratamento com a testemunha. Referir ainda que as cultivares PR35Y69 e PR34N43, foram aquelas em que a diferença de severidade entre testemunha e o conjunto dos tratamentos, foi maior.

Quadro 23. Caracterização da severidade da helmintosporiose em função da testemunha no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Cultivar	Severidade *
PR34P88	5,67 a
PR35Y65	4,17 ab
PR34N43	3,83 ab
PR35Y69	3,33 b

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

No quadro 24, estão indicadas as médias das pontuações atribuídas a cada tratamento, em função da severidade observada no campo e que corresponde basicamente a percentagens de áreas foliares com lesões causadas por *E. turcicum*. Pode-se interpretar pelos resultados apresentados que tanto o tratamento carbendazime + flusilazol 2 como o tratamento tebuconazol 2 obtiveram os melhores resultados (maior pontuação) em relação aos restantes tratamentos, significando, assim, que a severidade da helmintosporiose nas plantas sujeitas a esses tratamentos foi menor. O facto de se terem realizado duas aplicações de fungicida, em diferentes fases do ciclo cultural, melhorou bastante a protecção das plantas a micoses (helmintosporiose e ferrugem comum nas folhas), uma vez que funcionou de forma preventiva, criando uma barreira que retardou o processo de infecção. Contudo existem diferenças significativas entre o tratamento carbendazime + flusilazol 2 (5,58) e o tratamento tebuconazol 2 (7,17), sendo a eficácia deste último tratamento superior no controlo de *E. turcicum*, pela diminuição da área foliar afectada. De realçar que o tratamento Testemunha obteve um resultado idêntico a todos os outros tratamentos, ou seja, tanto os tratamentos com fungicidas efectuados apenas no estágio V9 como o tratamento NPK não diminuíram a severidade da helmintosporiose.

Quadro 24. Caracterização da severidade da helmintosporiose em função dos tratamentos no conjunto das cultivares e tratamentos em Odemira.

Tratamentos	Severidade *
Tebuconazol 2	7,17 a
Carbendazime + fluzilasol 2	5,58 b
Testemunha	4,25 c
Tebuconazol 1	4,21 c
Adubação NPK	4,13 c
Carbendazime + fluzilasol 1	3,88 c

* Os valores médios afectados por diferentes letras diferem estatisticamente ($p=0,05$), segundo o teste de Tuckey.

Ainda de referir que, de acordo com a empresa Pioneer Hi-Bred, para as cultivares que têm uma pontuação igual ou superior a 6 na escala “Scoring Northern Leaf Blight”, raramente existem benefícios económicos na utilização de fungicidas preventivos, como ocorreu com a cultivar PR34P88 que obteve uma pontuação próxima do 6 e na qual os tratamentos com fungicidas não tiveram o mesmo impacto positivo como aconteceu com as restantes cultivares, em especial para a cultivar PR34N43.

Pelos resultados dos ensaios de campo de Odemira entre 2004 e 2011 (Anexo XVI, quadro A23), nas cultivares PR34N43 e PR34P88, pode-se referir que existiu alguma correlação entre o rendimento e a severidade para a cultivar PR34N43 (0,62). Já, para a cultivar PR34P88, a correlação existente de acordo com as variáveis severidade e rendimento em grão, foi inferior (0,36). Estes resultados vêm confirmar a importância da susceptibilidade da cultivar quando presente em ambientes propícios ao desenvolvimento da helmintosporiose causada por *E. turcicum*, e o quanto importante é a utilização de cultivares com o maior tolerância à doença.

4.3. Susceptibilidade das cultivares em condições controladas

No Quadro 25 apresentam-se os resultados obtidos nas inoculações das cultivares estudadas com os isolados de referência de *E. turcicum* mantidos na micoteca de Patologia Vegetal do ISA. Cinco dos isolados foram obtidos de plantas de milho com sintomas de helmintosporiose em Portugal, três dos quais na região de Montemor-o-Velho (Coimbra), relativamente perto do local onde se realizou um dos ensaios, mas para o qual não foi possível efectuar uma comparação, derivado da inexistência da doença no ano em estudo.

Quadro 25. Reacções determinadas nas inoculações das cultivares de milho do ensaio com isolados de referência de *E. turcicum*.

Cultivares	Isolados						Et Re M 1.26	Et Ch M 28.14
	PR700	PR 701	PR 712	PR714	PR 715			
PR34N43	S	S	S	S	S	S	S	
PR34P88	S	S	S	S	S	S	S	
PR35Y65	S	S	S	S	S	S	S	
PR35Y69	S	S	S	S	S	S	S	

Todas as cultivares inoculadas mostraram-se susceptíveis aos isolados estudados, aparecendo lesões inicialmente cloróticas que evoluíram para necroses com vários centímetros de comprimento. As lesões acabaram por coalescer e levar à morte da extremidade ou da totalidade das folhas mais novas (Figura 7 e Figura 8). Concluiu-se, assim, que as cultivares presentes no ensaio são susceptíveis à helmintosporiose causada por *E. turcicum*. Nas condições em que foi feita a inoculação, o estágio V6 em que se encontravam as plantas na altura da inoculação e a elevada pressão de inóculo não permitiram que os diferentes genótipos em estudo expressassem os diferentes níveis de resistência de campo que manifestaram no ensaio de Odemira.

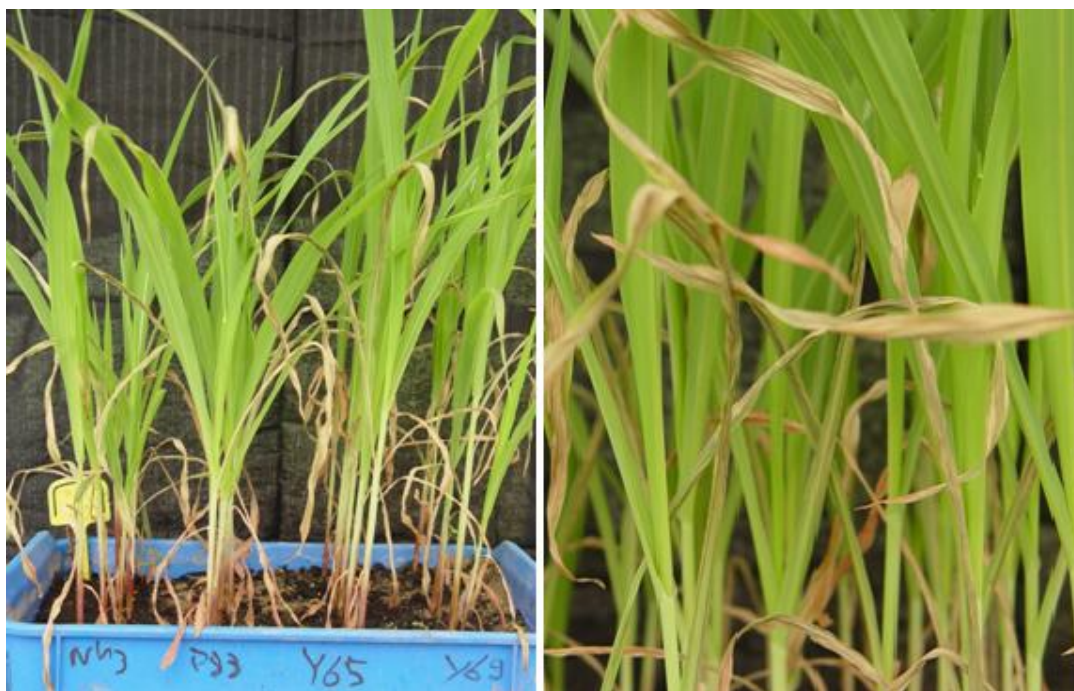


Figura 7. Lesões necróticas e morte de folhas, 10 dias após inoculação com um dos isolados de referência de *Exserohilum turcicum* (aspecto geral).



Figura 8. Lesões necróticas na extremidade de uma folha, 10 dias após inoculação com um dos isolados de referência de *Exserohilum turcicum* (pormenor).

5. Conclusões

O presente trabalho pretendia avaliar o efeito da helmintosporiose sobre o rendimento em grão de quatro cultivares de milho, quando colocadas em duas regiões endémicas de desenvolvimento de *E. turcicum* em Portugal continental, em Longueira (distrito de Odemira) e em Alfarelos (distrito de Coimbra).

A doença só esteve presente no ensaio de campo de Odemira, devendo-se sobretudo às condições meteorológicas favoráveis ao desenvolvimento da doença, terem ocorrido principalmente a partir do mês de Setembro. Por isso, o início da infecção, ocorrida no estágio R4, foi considerado tardio por ter surgido cerca de cinco semanas depois do estágio VT. Assim, concluiu-se através dos resultados dos ensaios que a helmintosporiose não originou quebras significativas no rendimento em grão entre as cultivares.

As condições meteorológicas presentes nos ensaios de campo de Coimbra foram desfavoráveis para o processo de infecção da helmintosporiose. Enquanto que as temperaturas médias e máximas estiveram acima do normal para a época do ano, a humidade relativa e a precipitação foram muito inferiores ao normal.

Assim, conclui-se que as condições meteorológicas registadas nos ensaios de campo em 2010 foram atípicas, não podendo esse ano ser considerado ideal e representativo para avaliação do rendimento em grão das cultivares em função da severidade da helmintosporiose.

A avaliação do conjunto dos resultados obtidos nos ensaios de campo de Coimbra e Odemira permitiram concluir que o local do ensaio influenciou o resultado obtido no rendimento em grão, com cerca de mais 1000 kg/ha, em média, no ensaio de Coimbra em relação ao ensaio de Odemira. O local do ensaio influenciou ainda o peso de 1000 grãos, com 406,6 g em média por cultivar no ensaio de Odemira e 385,9 g em média por cultivar no ensaio de Coimbra. O factor cultivar influenciou todos os parâmetros em estudo. Em termos de rendimento em grão o resultado mais elevado foi o da cultivar PR34N43, com 16 389 kg/ha. No peso específico todas as cultivares tiveram um resultado idêntico, excepto a cultivar PR34P88 que obteve o valor mais baixo, com 68 kg/hl. No peso de 1000 grãos o valor mais alto foi o da cultivar PR35Y69, com 405,6 g. Assim sendo, consta-se que o factor cultivar foi aquele que teve maior preponderância nos resultados obtidos.

Pode-se concluir da avaliação apenas no ensaio de campo de Odemira que houve cultivares que diferiram significativamente no rendimento em grão, no peso específico e na severidade da helmintosporiose, tendo apenas o peso de 1000 grãos sido idêntico entre as cultivares. A cultivar PR34N43 foi a que obteve o maior rendimento em grão (16 700 kg/ha) e peso específico (70,6 kg/hl).

A cultivar PR34P88 foi a que se revelou menos susceptível à helmintosporiose com uma pontuação mais alta na escala Pioneer “Scoring Northern Leaf Blight”, tendo como tal uma menor severidade tanto no conjunto dos tratamentos efectuados (5,4), como na Testemunha (5,7).

Os tratamentos não influenciaram o rendimento em grão nem o peso específico entre as cultivares, já no peso de 1000 grãos o tratamento em que foi utilizado carbendazime + flusilazol em duas aplicações aumentou significativamente o peso de 1000 grãos, em relação aos tratamentos Testemunha e Adubação NPK.

Quanto à severidade à helmintosporiose, o tratamento com tebuconazol com duas aplicações foi o que teve menor índice de severidade (7,2), seguido do tratamento com carbendazime + flusilazol com duas aplicações (5,6).

Dos resultados das inoculações efectuadas em estufa, com condições controladas de luminosidade, humidade e temperatura, concluiu-se que todas as cultivares foram susceptíveis aos isolados de referência de *E. turcicum*. Assim, o comportamento evidenciado pelas cultivares no ensaio de campo foi influenciado por factores que não apenas os expressos na inoculação na estufa no estágio V6.

Ao nível do comportamento entre a cultivar convencional (PR35Y65) e a cultivar geneticamente modificada (PR35Y69), pode-se concluir que o comportamento das cultivares foi idêntico, sendo o rendimento em grão da cultivar PR35Y69 ligeiramente mais baixo em ambos os ensaios do que a cultivar PR35Y65. Contudo, o peso de 1000 grãos foi sempre superior na cultivar PR35Y69. A severidade da helmintosporiose no ensaio de Odemira foi também idêntica em ambas as variedades.

Os resultados dos ensaios obtidos pela Pioneer em diferentes anos em Odemira e Coimbra realçam a importância da avaliação da helmintosporiose causada por *E. turcicum* e também o interesse posto na experimentação e utilização de cultivares mais resistentes à helmintosporiose (resistência poligénica) de forma a poder dar garantia de uma melhor estabilidade e regularidade em termos de rendimento em grão ao longo dos anos, sabendo que em muitas zonas de produção do milho em Portugal

podem ocorrer epidemias de helmintosporiose. Nesses ensaios, as cultivares PR34P88 e PR34N43, utilizadas no âmbito do presente trabalho, foram semeadas desde 2004 e pode-se concluir que a cultivar PR34P88 foi a mais estável em todos os parâmetros avaliados, nomeadamente a resistência à helmintosporiose. Enquanto para esta cultivar a severidade da doença foi sempre baixa, o que permitiu uma muito fraca correlação entre o rendimento em grão e a severidade de helmintosporiose (0,36), na cultivar PR34N43, mais afectada pela helmintosporiose nalguns anos, determinou-se uma maior correlação entre a severidade da helmintosporiose e a quebra de rendimento em grão (0,62).

6. Referências Bibliográficas

- Agrios, G.N. 2005. Plant pathology. 5th ed., Academic Press, Inc., San Diego.
- Babu, R.; Mani, V.P.; Pandey, A.K.; Pant, S.K.; Rajeshsingh, Kundu, S. & Gupta, H.S. 2004. Maize Research at Vivekanand Parvatiya Krishi Anusandhan Anusandhan Sansthan. Almora 21:31.
- Baudet, L. & Misra, M.; 1991. Atributos de qualidade de sementes de milho beneficiadas em mesa de gravidade. Revista Brasileira de Sementes, 13:2, 91-97.
- Bimbla, R.; Kumar, S.; Kumar, B. & Rai, B. 2002. Effect of doses of nitrogen on the development of Turcicum leaf blight and yiel of maize. Annals of Biology 18:137-141.
- Bleicher, J.; Balmer, E. & Zinsly, J.R. 1993. Resistência horizontal e *Exserohilum turcicum* em milho, cultivar Pipoca Amarela. Fitopatologia Brasileira 18:187-193.
- Bowen, K.L.; Everts, K.L. & Leath, S. 1991. Reduction in winter wheat in North Carolina due to powdery mildew and leaf rust. Phytopathology 81:503-511.
- Bull, L.T & Cantarella, C.; 1993. Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba –SP. Editora Polafos.
- Butzen, S. & Munkvold, G.P. 2004. Corn seedling diseases; Pioneer Crop Insights 14:1-5.
- Caligiorne, R.B.; Resende, M.A. de; Oliveira, R.C.B.W.; Valério, H.M.; Cordeiro, R.A.; Azevedo, V. 1999. Fungos Dematiáceos. Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 22-25.
- Cantone, F.A. & Dunkle, L.D. 1990. Resistance in susceptible maize to *Helminthosporium carbonum* race 1 induced by prior inoculation with race 2. Phytopathology 80:1221-1224.
- Carson, M.L. 1999. *Helminthosporium* Leaf Spots and Blights. In Donald G. White (ed), Compendium of Corn Diseases. St. Paul, Minnesota. The American Phytopathology Society, pp. 16-17.

- Carson, M.L. & Van Dyke, C.G. 1994. Effect of light and temperature on expression of partial resistance of maize to *Exserohilum turcicum*. *Plant Disease* 78:519-522.
- Ceballos, H.; Deutsch, J.A. & Gutierrez, H. 1991. Recurrent selection for resistance to *Exserohilum turcicum* in eight subtropical maize populations; *Crop Science*.31:964-971.
- Drechsler, C. 1923. Some gramincolous species of *Helminthosporium*. *Journal of Agricultural Research* 24: 641-739.
- Elliott, C. & Jenkins, M.T. 1946. *Helminthosporium turcicum* leaf blight of corn *Phytopathology* 36:660-666.
- Faccioni, R.L. & Viecelli, C.A.; 2009. Interferência da densidade populacional em cinco híbridos de milho (*Zea mays* L.) sobre parâmetros fisiológicos e produtivos. *Cascavel*, 2:2, 30-39.
- Fancelli, A. L. 1993. A importância da cultura do milho no plantio direto. Embrapa, Fundacep-Fecotrigo, Fundação ABC. *Plantio direto no Brasil*. Passo Fundo: Editora Aldeia Norte, 119-127.
- FAPRI, 2010. Center for Agricultural and Rural Development – Iowa State University. *World Agricultural Outlook Briefing Book 2010*. *Crop Outlook*, pp. 22-25.
- Hooker, A.L & Kim, S.K. 1973. Monogenic and multigenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. *Plant Disease Reporter* 57:586–589.
- Hooker, A.L. & Perkins J.M. 1980. *Helminthosporium* leaf blights of corn – the state of the art. *Proceedings Annual Conference Corn Sorghum Industry Research Conference* 35:68-67.
- Jordan, E.G.; Perkins, J.M.; Schall, R.A. & Pedersen, W.L. 1983. Occurrence of race 2 of *Exserohilum turcicum* on corn in the central United States. *Plant Disease* 67:1163-1165.
- Júnior, A.C.G., Trautmann, R.R., Marengoni, N.G., Ribeiro, O.L. & Santos, A.L. dos; 2007. Produtividade do milho em resposta a adubação NPK e Zn em argissolo vermelho-amarelo eutrófico e latossolo vermelho eutrófico. *Ciências e Agrotecnologia, Lavras*, 31:4

- Khatri, N.K. 1993. Influence of temperature and relative humidity on the development of *Helminthosporium turcicum* on maize in western Georgia; Indian Journal of Mycology and Plant Pathology 23:35-37.
- Levy, Y. 1991. Variation in fitness among field isolates of *Exserohilum turcicum* in Israel. Plant Disease 75:163-166.
- Levy, Y. & Leonard, K.J. 1990. Yield loss in sweet corn in response to defoliation or infection by *Exserohilum turcicum*. Journal of Phytopathology 128:161-171.
- Leonard, K.J. & Suggs, E.G. 1974. *Setosphaeria prolata* is the ascigenous state of *Exserohilum prolata*. Mycologia 66: 181-297.
- Lima, A., 2004; A ocorrência da raça fisiológica 1 de *Exserohilum turcicum* no milho na ilha de Santiago, arquipélago de Cabo Verde; In actas do 4º Congresso da Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, pp. 176-180
- Lipps, P.E. & Madden, L.V. 1989. Assessment of methods of determining powdery mildew severity in relation to grain yield of winter wheat cultivars in Ohio. Phytopathology 79:462-470.
- Lipps, P.E. & Mills, D. 2002. Northern Corn Leaf Blight. Extension Fact Sheet AC-20-02. Columbus: Ohio State University.
- Luiz, C.B.F. & Magro, S.R. 2007. Controle biológico das pragas da espiga, sobre parâmetros qualitativos e quantitativos na cultura do milho de safrinha em Ubitatã/PR. Campo Mourão, 2:1, 13-21.
- Mahamood, A.; Javed, N.; Ahmad, R. & Raheel, Z.I. 1995. Biological control of maize leaf blight caused by *Helminthosporium turcicum* Pass *in vitro*. Pakistan Journal of Phytopathology 7:62-64.
- Mazzani, C.; Garrido, M.J. & Rangel, E. 1997. Occurrence of *Exserohilum turcicum* on sorghum, Johnson-grass and Sudan grass in Maracay, Venezuela. Fitopatologia Venezolana 10: 23.
- Mucharromah, E. & Kuc', J. 1991. Oxalates and phosphates induce systemic resistance against disease caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber. Crop Protection 10:265-270.

- Munkvold, G. 2006. Foliar Fungicide Use in Corn. Pioneer Hi-Bred Internacional - Crop Insights 16:5.
- Pammel, N.B.; King, D.N. & Bakke, A.K. 1910. Two barley blights. Bulletin Stav. Pat.Veg. Deva 21: 1-62.
- Pataky, J.K.; Raid, R.N.; Toit, L.J.; Schueneman, T.J. & Toit, L.J. 1998. Disease severity and yield of sweet corn hybrids with resistance to northern leaf blight. Plant Disease 82:57-63.
- Paul, P. 2007. Continuous Corn: Its effect on diseases. The Ohio State University - Corn Observation and Recommendation Network. Newsletter 2007-04 Articles.
- Payak, M.M. & Sharma, R.C. 1983. Disease rating scales in maize in India. In Techniques of Scoring for Resistance to Important Diseases of Maize. All India Coordinated Maize Improvement Project, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, pp. 1-4.
- Perkins, J.M. & Pedersen, W.L. 1987. Disease development and yield losses associated with northern leaf blight on corn. Plant Disease 71:940-943.
- Pinto, N.F. & Fernandes, F.T. 1995. Avaliação de fungicidas no controle da mancha foliar do milho causada por *Phyllosticta* sp. (*Phaeosphaeria maydis*). Fitopatologia Brasileira 20:333-1995.
- Pinto, N. 1997. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares do milho. Summa-Phytopathologica 23:3, 271-274.
- Pioneer Hi-Bred Internacional 2002. Northern Corn Leaf Blight. Field Facts, 2:6.
- Pioneer Hi-Bred Internacional 2010a. Northern Leaf Blight. Pioneer Technical Insights, 339. New Zealand.
- Pioneer Hi-Bred Internacional 2010b. Northern Leaf Blight Resistance. Field Facts, 6:2.
- Rahman, M.H.; Begum, L.A.; Alam, K.B. & Khan, A.L. 1993. Efficacy of fungicides to control turcicum leaf blight of maize. Bangladesh Journal of Plant Pathology 9:35-36.
- Raymundo, A.D. & Hooker, A.C. 1981. Measuring relationship between northern leaf blight of maize and yield losses. Plant Disease Bulletin 65:325-327.

- Reuveni, M.; Agapov, V. & Reuveni, R. 1993. Induction of systemic resistance to powdery mildew and growth increase in cucumber by phosphates. *Biological Agriculture & Horticulture* 9:305-315.
- Reuveni, R. & Reuveni, M. 1998. Foliar – fertilizer therapy – a concept in integrated pest management. *Crop Protection* 17:2, 111-118.
- Ritchie, S.W.; Hanway, J.J. & Benson, G.O. 1993. How a Corn Plant Develops. Iowa State University of Science and Technology, Ames, Iowa. Special Report no 48.
- Sabba Rao, K.V.; Yang, X.B.; Berggren, G.T. & Snow, J.P. 1989. A multiple regression model to estimate the contribution of leaves and the effect of leaf rust on yield of winter wheat. *Phytopathology* 79:1233-1238.
- Schwartz, H.F. & Gent, D.H. 2005. Sweet Corn XXXVI – *Helminthosporium* Leaf Blight; High Plains IPM Guide, a cooperative effort of the University of Wyoming, University of Nebraska, Colorado State University and Montana State University.
- Seck, M.; Roelfs, A.P. & Teng, P.S. 1991. Influence of leaf position on yield loss caused by wheat leaf rust in single tiller. *Crop Protection* 10:222-228.
- Shekhawat, P.S. & Prasad, R. 1971. Antifungal properties of some plant extracts on inhibition of spore germination. *Indian Phytopathology*, 24: 800-802.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. *Mycol. Pap.* 158:1-261.
- Slopeck, S.W. 1989. An improved method of estimating percent leaf area diseased using a 1 to 5 disease scale. *Plant Pathology*. 11:381-387.
- Soave, J. & Moares, S.A. 1987. Medidas de controle de doenças transmitidas por sementes. In: *Patologia de sementes*. (Soave, J. & Wetzell, M. eds.) Campinas, Fundação Cargill, pp. 192-259.
- Stuckey, R.E.; Niblack, T.L.; Nyvall, R.F.; Krausz, J.P. & Horne, C.W. 1993. Corn Disease Management. Pest Management. National Corn Handbook. Ohio.
- Sweets, L.E. & Wright, S. 2008. Integrated Pests Management – Corn Disease. Plant Protection Programs. Published by University Missouri – College of Agriculture, Food and Natural Resources.

Takan, J.P.; Adipala, E. & Ogenga L.M.W. 1994. Northern leaf blight progress and spread from infested maize residue. *African Crop Science Journal*, 2:197-205.

Tuzun, S.; Nesmith, W., Ferries, R. C. & Kuc', J. 1986. Effects of stem injections with *Peronospora tahacina* on growth of tobacco and protection against blue mould in the field. *Phytopathology* 76:938-941.

Ullstrup, A.J. 1966. Corn diseases in the United States and their control; Agriculture Handbook No. 199 - United States, Department of Agriculture, 26.

Ullstrup, A.J. 1970. A comparison of monogenic and polygenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. *Phytopathology* 60:1597-1599.

Ullstrup, A.J. & Miles, S.R. 1957. The effects of some leaf blights of corn on grain yield. *Phytopathology* 47:331-336.

WebSites

<http://faostat.fao.org/default.aspx> (consultado a 13 de Janeiro de 2011).

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Milho> (consultado a 15 de Janeiro de 2011).

<http://maizedoctor.cimmyt.org/en/pests-and-diseases/247?task=view> (consultado a 10 de Dezembro de 2010).

<http://www.abimilho.com.br/ocereal.htm> (consultado a 15 de Janeiro de 2011).

<http://www.anpromis.pt/dados-estatisticos/> (consultado a 11 de Janeiro de 2011).

Anexos

Anexo I – Produção e áreas de exploração agrícola de milho no Mundo, na UE e em Portugal

Mundo 2009

Production (tonnes)

year

country	item	2009	
World + (Total)	Maize	817110509	A

A = May include official, semi-official or estimated data
FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2011 | 13 January 2011

Area Harvested (Ha)

year

country	item	2009	
World + (Total)	Maize	159531007	A

A = May include official, semi-official or estimated data
FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2011 | 13 January 2011

União Europeia 2009

Production (tonnes)

year

country	Item	2009	
European Union + (Total)	Maize	57778082	A

A = May include official, semi-official or estimated data
FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2011 | 13 January 2011

Area Harvested (Ha)

year

country	item	2009	
European Union + (Total)	Maize	8349407	A

A = May include official, semi-official or estimated data
FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2011 | 13 January 2011

Portugal 2009

Production (tonnes)

year

country	item	2009	
Portugal	Maize	593500	

[] = Official data
FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2011 | 13 January 2011

Area Harvested (Ha)

year

country	item	2009	
Portugal	Maize	87600	

[] = Official data
FAOSTAT | © FAO Statistics Division 2011 | 13 January 2011

Anexo II – Produções de produtos agrícolas em 2008

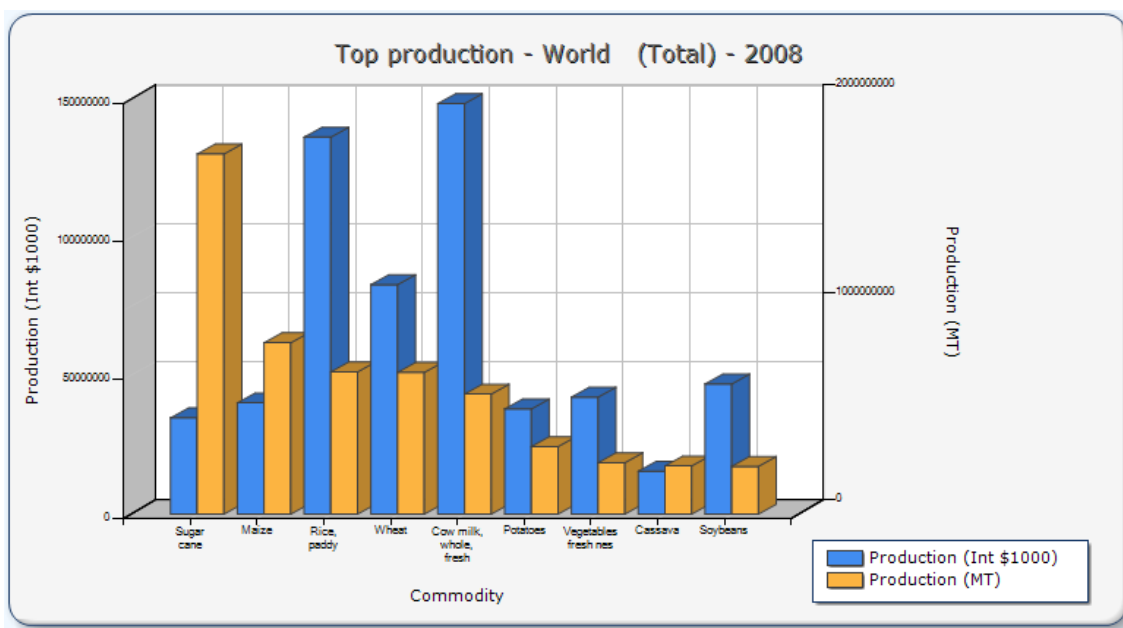


Figura A1 – Produção de produtos agrícolas no Mundo em 2008 (Fonte: FAOSTAT, 2011).

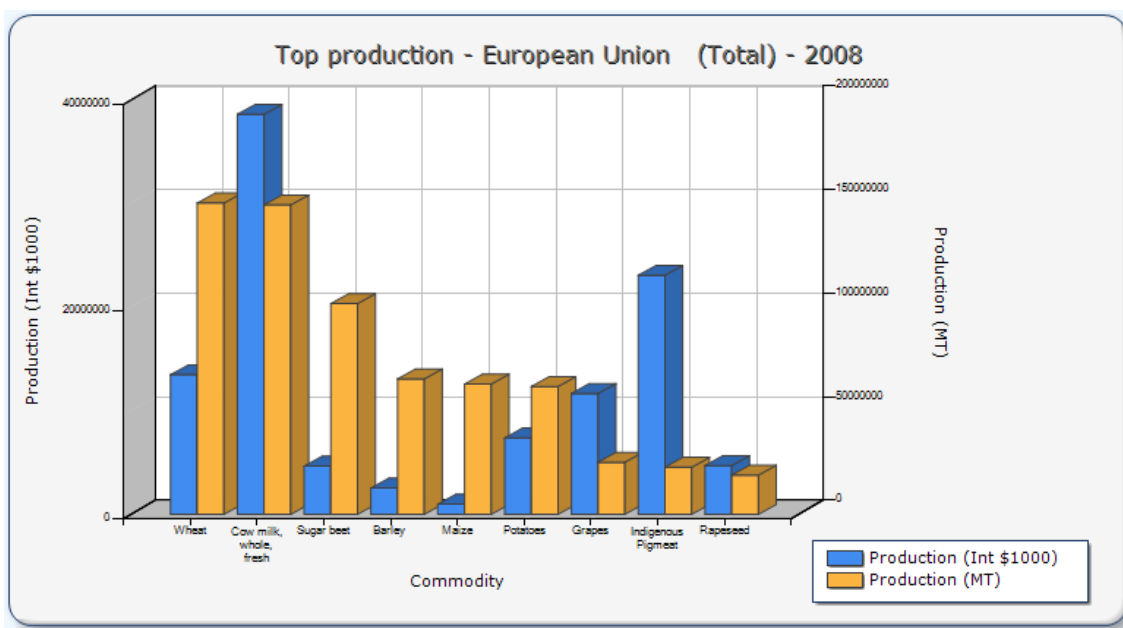


Figura A2 – Produção de produtos agrícolas na União Europeia em 2008 (Fonte: FAOSTAT, 2011).

Anexo III – Produções mundiais de milho em 2008

Quadro A3 – Produção de milho em diferentes países do Mundo em 2008 (Fonte: FAOSTAT, 2011).

Rank	Area	Production (Int \$1000)	Production (MT)
1	United States of America	20261250	307142010
2	China	6959063	166032097
3	Brazil	1925338	58933347
4	Mexico	1292539	24320100
5	Argentina	2042438	22016926
6	India	1442042	19730000
7	Indonesia	1286208	16323922
8	France	908509	15818500
9	South Africa	1004019	12700000
10	Ukraine	357746	11446800
11	Canada	451757	10592000
12	Hungary	685763	8897138
13	Romania	247997	7849080
14	Nigeria	688353	7525000
15	Philippines	275573	6928220
16	Russian Federation	61156	6682300
17	Egypt	175303	6543640
18	Serbia	126976	6158120
19	Germany	39491	5105861
20	Viet Nam	70188	4531200

Anexo IV – Resultado dos ensaios de campo de Coimbra em 1997 e 1999, entre a severidade da helmintosporiose e o rendimento em grão de cultivares de milho.

Quadro A4 – Resultado da severidade da helmintosporiose e do rendimento em grão de cultivares de milho nos ensaios de campo de Coimbra em 1997

Código – Cultivar	Helmintosporiose	Rendimento (kg/ha)
P1	5	13600
P1	4	14600
P1	5	14800
P2	5	14400
P2	6	14650
P2	6	13500
P3	5	13850
P3	5	12700
P3	5	10650
P4	7	14350
P4	8	12800
P4	7	14000
P5	6	13800
P5	6	13650
P5	6	14100
P6	7	12400
P6	5	10450
P6	5	13100
P7	6	11200
P7	5	10100
P7	7	11900
P8	7	15350
P8	6	12200
P8	7	13400
P9	6	12100
9	4	12750
P9	6	13800
P10	7	13200
P10	7	12300
P10	6	11900
P11	7	14150
P11	8	14550
P11	6	16880
P12	7	14000
P12	8	15400
P12	6	14600

Quadro A5 – Resultado da severidade da helmintosporiose e do rendimento em grão de cultivares de milho nos ensaios de campo de Coimbra em 1999

Código - Cultivar	Helmintosporiose	Rendimento (kg/ha)
P25	6	13200
P25	4	13300
P26	6	12250
P26	6	13500
P27	6	13150
P27	6	14300
P28	7	15550
P28	7	13500
P29	6	14250
P29	7	13550
P30	5	13950
P30	6	14300
P31	5	12650
P31	7	15700
P32	5	14100
P32	7	17650
P33	5	15500
P33	6	14900
P34	6	18350
P34	6	17050
P35	5	13050
P35	7	13000
P36	7	15000
P36	7	14950

(Fonte: Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, S.A)

Anexo V – Resultado dos ensaios de campo de Odemira entre 2004 e entre a severidade da helmintosporiose e do rendimento em grão de cultivares de milho.

Quadro A 6 – Resultado dos ensaios de campo de Odemira entre 2004 e entre a severidade da helmintosporiose e do rendimento em grão de cultivares de milho.

Locais	Anos	Rendimento			Severidade			
		N43	P88	Média	N43	P88	Média	
Local 1 - V.N. Milfontes	2004	12.911	15.318	14.115	4,00	7,00	5,50	
Local 1 - V.N. Milfontes	2004	13.757	14.286	14.022	4,00	7,00	5,50	
Local 3 - V.N. Milfontes	2004	16.695	15.765	16.230	-	-	-	
		14.454	15.123	14.789	4,00	7,00	5,50	
Local 1 - V.N. Milfontes	2005	11.654	11.764	11.709	Não foi avaliado			
		11.654	11.764	11.709				
Local 1 - V.N. Milfontes	2006	14.015	15.098	14.557	5,00	7,00	6,50	
		Média	14.015	15.098	14.557	5,00	7,00	6,50
Local 2 - V.N. Milfontes	2007	10.624	12.121	11.373	4,00	6,00	5,00	
Local 1 - V.N. Milfontes	2007	14.432	12.612	13.522	7,00	7,00	7,00	
		Média	12.528	12.367	12.448	5,50	6,50	6,00
Local 2 - V.N. Milfontes	2008	12.376	12.367	12.372	4,00	7,00	5,50	
Local 1 - V.N. Milfontes	2008	10.770	11.067	10.919	5,00	7,00	6,00	
		Média	11.573	11.717	11.646	4,50	7,00	5,75
Local 2 - V.N. Milfontes	2009	13.722	13.687	13.705	5,00	7,00	6,00	
Local 1 - V.N. Milfontes	2009	15.113	15.222	15.167	6,00	7,00	6,50	
		Média	14.418	14.455	14.436	5,50	7,00	6,25
Local 2 - V.N. Milfontes	2010	14.002	14.262	14.132	6,00	7,00	6,50	
Local 1 - V.N. Milfontes	2010	13.638	14.099	13.869	5,50	7,00	6,50	
		Média	13.820	14.181	14.001	5,75	7,00	6,50
Local 1 - V.N. Milfontes	2011	7.997	9.195	8.596	5,50	7,00	6,25	
		7.997	9.195	8.596	5,50	7,00	6,25	
Ensaios Odemira	2006 a 2011	12.557	12.987	430	5,29	6,92	6,21	

(Fonte: Pioneer Hi-Bred Sementes de Portugal, S.A.)

ANEXO VI – Classificação geral das cultivares em estudo

PRISM ZONE	EEBU_TestZone	WEBU_TestZone	Product	Pre-commercial name	Base	MSEG	EurCVN	COM - EU	CONT Grain CRM	PRISM CRM	PRISM HRM	Kernel Texture	Grain YLD/Mat.	Drought tol	EAR HT	PLHTSC	RTLSC	ERTLSC	LRTLSC	BRTSC	STAGRN	STKLDs	NLFLT
103	103	103	35Y65	X1069G	35Y65	HTF,HES	PR35Y65	2003	105	105	105	4	7	5	5	5	5	5	7		4	5	4
108	108	108	34N43	X1110G		YFC,HTF	PR34N43		110	111	110	3	8	8	5	4		nd	5	6	7	4	5
108	108	108	34P88	X1093K			PR34P88		110	111	110	4	9	7	5	6		5	5	3	6	6	6
												Textura do grão	rendimento na classe	tolerância ao stress hídrico	altura de inserção da espiga	altura de planta	acama pela raiz	acama precoce pela raiz	acama tardia pela raiz	quebra caule acima da espiga	verdor fina	acama pelo caule abaixo da espiga	helmintosporium

GIBERS	FUSERS	CMNSMT	HDSMT	ECBLSI	Stress Emergence	EAR RET	HSKCVR	Grain Drydown	TST WT	Cato, nível, MaisTer 2010	Herbicide Resistance against Amide	Herbicide Resistance against Benzoic Acid and Phenoxy	Herbicide Resistance against Isoxazole	Herbicide Resistance against SU
6	5	5	6	5	5		6		6		Adequate Tolerance	Adequate Tolerance	Requires Careful Management	Adequate Tolerance
5,5	5		3		5		5	6	5		Adequate Tolerance	Requires Careful Management	Requires Careful Management	Adequate Tolerance
6	4,5		6	6	4		5	7	5		Adequate Tolerance	Adequate Tolerance	Adequate Tolerance	Adequate Tolerance
giberela	fusario	moirão	moirão da espiga	piral/sesamia	emergência sob stress	retenção da espiga	proteção do grão	perda de humidade após maturação fisiológica do grão	peso específico					

Fonte: Pioneer Hi-Bred internacional.

Anexo VII – Esquema do ensaio de campo de Coimbra

Ensaio Tese – Alfarelos (Coimbra)

Repetição 3	Lousal 1 P88	Test. 2 Y65	Punch 2 Y65	Lousal 2 N43	Punch 1 Y65	Test. 1 Y65	Lousal 2 P88	Test. 1 N69	Punch 1 N43	Test. 2 P88	Punch 2 P88	Test. 2 N43
	Test. 1 N43	Lousal 1 N43	Lousal 2 Y65	Punch 1 P88	Punch 2 N43	Punch 1 Y69	Punch 2 Y69	Test. 1 P88	Lousal 1 Y69	Test. 2 Y69	Lousal 2 Y69	Lousal 1 Y65
Repetição 2	Punch 2 P88	Test. 1 Y69	Test. 1 Y65	Lousal 1 Y65	Lousal 1 P88	Test. 2 Y65	Lousal 2 Y69	Lousal 2 Y65	Lousal 2 P88	Punch 1 N43	Punch 2 Y69	Test. 2 Y69
	Lousal 1 Y69	Test. 2 N43	Punch 1 Y69	Punch 2 Y65	Punch 2 N43	Test. 1 N43	Test. 2 P88	Punch 1 P88	Test. 1 P88	Punch 1 Y65	Lousal 1 N43	Lousal 2 N43
Repetição 1	Test. 1 P88	Test. 2 P88	Lousal 1 P88	Lousal 2 P88	Punch 1 P88	Punch 2 P88	Test. 1 N43	Test. 2 N43	Lousal 1 N43	Lousal 2 N43	Punch 2 N43	Punch 2 N43
	Test. 1 Y65	Test. 2 Y65	Lousal 1 Y65	Lousal 2 Y65	Punch 1 Y65	Punch 2 Y65	Test. 1 Y69	Test. 2 Y69	Lousal 1 Y69	Lousal 2 Y69	Punch 1 Y69	Punch 2 Y69

Anexo VIII – Esquema do ensaio de campo de Odemira

Ensaio Tese – Longueira (Odemira)												
Repetição 3	Enigma 1 Y69	Test. 2 Y69	Test. 1 P88	Test. 1 Y69	Enigma 2 Y69	Enigma 2 N43	Punch 2 Y69	Test. 1 N43	Enigma 1 Y65	Test. 1 Y65	Punch 2 P88	Test. 2 Y65
	Punch 1 P88	Enigma 1 P88	Punch 1 Y65	Punch 2 Y65	Enigma 2 Y65	Enigma 2 P88	Test. 2 N43	Punch 1 N43	Punch 2 N43	Test. 2 P88	Punch 1 Y69	Enigma 1 N43
Repetição 2	Test. 2 P88	Punch 2 Y65	Enigma 2 Y69	Test. 2 N43	Test. 2 Y69	Test. 1 N43	Punch 1 Y65	Enigma 2 N43	Enigma 1 N43	Punch 1 Y69	Enigma 2 Y65	Punch 1 P88
	Test. 1 Y65	Enigma 1 Y69	Test. 1 Y69	Enigma 1 P88	Punch 2 Y69	Test. 2 Y65	Enigma 2 P88	Enigma 1 Y65	Punch 1 N43	Test. 1 P88	Punch 2 N43	Punch 2 P88
Repetição 1	Punch 1 N43	Enigma 2 Y69	Punch 1 Y69	Test. 1 P88	Enigma 1 Y69	Test. 2 P88	Enigma 1 Y65	Test. 2 Y69	Enigma 2 N43	Punch 2 Y65	Test. 2 Y65	Enigma 2 Y65
	Punch 2 P88	Punch 1 Y65	Punch 2 N43	Test.2 N43	Punch 2 Y69	Test. 1 Y69	Test. 1 Y65	Test. 1 N43	Enigma 1 P88	Punch 1 P88	Enigma 1 N43	Enigma 2 P88

Anexo IX – Fungicidas utilizados nos ensaios de campo



O PUNCH CS é uma associação de dois fungicidas orgânicos de síntese, polivalentes e sistémicos, indicado para o controlo das doenças dos cereais e da beterraba.

Tipo de Produto: Fungicidas

Formulação: Suspo-emulsão contendo 125 g/l ou 11,6% (p/p) de carbendazime e 250 g/l ou 23,2% (p/p) de flusilazol

Família Química: Benzimidazol e triazol

Número APV: 2305

Classificação Toxicológica: Tóxico/Perigoso para o ambiente

Embalagem:

- . 1l
- . 20l

Características principais:

- PUNCH® CS é um fungicida sistémico, com acção preventiva e curativa sobre diversas doenças dos cereais e da beterraba.
- É composto por carbendazime e flusilazol ambos fungicidas sistémicos com acção preventiva e curativa, que penetram rapidamente na planta após a aplicação, ficando ao abrigo da chuva e protegendo eficazmente os novos tecidos formados entre dois tratamentos.



ENIGMA® é um fungicida sistémico da família dos triazóis, que actua na demetilação da síntese de esteróis (DMI), com acção preventiva e curativa, indicado para o controlo do oídio da videira, olho de pavão da oliveira e doenças do trigo e cevada.

Tipo de Produto: Fungicidas

Formulação: Emulsão água em óleo com 250 g/l ou 25,5% (p/p) de tebuconazol

Família Química: Triazol

Número APV: 3739

Classificação Toxicológica: Nocivo/Perigoso para o ambiente

Embalagens:

- . 40ml
- . 1l

Características principais:

- O ENIGMA® é um fungicida orgânico sistémico da família dos triazóis, que actua na demetilação da síntese de esteróis (DMI), com acção preventiva e curativa, indicado para o controlo do oídio da videira, doenças do trigo e cevada e olho de pavão do olival.
 - O produto penetra rapidamente no interior da folha (2 horas), propiciando a retenção e consequente resistência à lavagem.
-

Anexo X – Calendário de operações/avaliações (campo e estufa)

- **24 de Maio** – Realizou-se a sementeira no ensaio de Coimbra. Já tinha sido aplicado anteriormente pelo agricultor 100kg/ha de KCl;
- **27 de Maio** – Efectuou-se a sementeira no ensaio de Odemira. Aplicou-se a seguir à sementeira 60kg de 8-24-24;
- **21 de Junho** – Aplicou-se 55kg de Nitrolusal 27 (13,7% azoto nítrico; 13,3% azoto amoniacal e 6% de óxido de cálcio) no ensaio em Odemira. Contagens do nº de plantas nas linhas centrais de cada talhão. Análise do vigor de crescimento;
- **25 de Junho** – Aplicou-se 55kg de Nitrolusal 27 (13,7% azoto nítrico; 13,3% azoto amoniacal e 6% de óxido de cálcio) no ensaio de Coimbra, antes do agricultor efectuar abertura dos regos para iniciar a rega. Monda com glifosato na linha para definir as “ruas” de cada talhão. O agricultor aplicou ainda o herbicida pós-emergente Laudis (1,8L/ha) para controlo de infestantes na linha e entrelinha;
- **29 de Junho** – Monda com glifosato na linha para definir as “ruas” de cada talhão no ensaio de Odemira. Ainda não se aplicou herbicida por parte do agricultor e as infestantes estão a ocuparem grande parte da linha e entrelinha.
- **1 de Julho** – Foram realizados os primeiros tratamentos consoante as respectivas modalidades no ensaio de Coimbra e efectuada a contagem de nº de plantas nas linhas centrais de cada talhão;
- **5 de Julho** – Efectuada nova adubação de cobertura com 55kg de Nitrolusal 27 no ensaio de Odemira devido ao agricultor ainda não ter feito o herbicida e como tal a última adubação ter sido em grande parte aproveitada pelas infestantes, e não pelo milho (coloração verde bastante clara, com sinal de falta de azoto). Aplicou-se juntamente os herbicidas de pós-emergência Callisto (0,75L/ha) + Samson (1,2L/ha);

No ISA fez-se a sementeira em estufa, em 8 tabuleiros com 4 variedades por tabuleiro

- **8 de Julho** – Pode-se averiguar que o milho no ensaio em Odemira sofreu um pouco de fitotoxicidade do herbicida e queimadura nas folhas por parte do adubo de cobertura. Fizeram-se os primeiros tratamentos consoante as respectivas modalidades. Aplicou-se ainda perto de 40kg de ureia (46% N) para recuperar o vigor da cultura. O agricultor procedeu à sacha depois das aplicações de adubo e respectivos tratamentos, para promover o arejamento, infiltração da água no solo e algum desbaste de infestantes na entrelinha que não foram mortas pelos herbicidas.
 - **19 de Julho** – Iniciou-se o segundo tratamento (apenas na testemunha 2 – adubação foliar) no ensaio em Coimbra. Avaliou-se o nível de ferrugem desde o 1º tratamento até ao momento (podendo observar-se que em todos os casos que se fez os tratamentos fúngicos não houve ataque deste fungo nas folhas superiores e mais próximas do local da maçaroca – aspecto positivo). Pode ainda ver-se que existia nas variedades convencionais algum ataque de broca (sesamia) acentuado podendo variar de 1 a 10% nos diferentes talhões;
-

-
- **20 de Julho** – Monda manual das infestantes no ensaio em Odemira devido a este ser elevado na linha, atrasando cada vez mais o milho por competição, quando comparado com o outro ensaio. Iniciou-se o segundo tratamento (apenas na testemunha 2 – adubação foliar);
 - **21 de Julho** - No ISA fez-se a inoculação com 7 tipos diferentes de isolados de *Exserohilum Turcicum* de origem principalmente nacional mas também estrangeira;
 - **29 de Julho** – No ISA procedeu-se à avaliação dos sintomas das folhas com base na classificação de Hooker;
 - **18 de Agosto** – Finalizou-se o terceiro tratamento (nas diferentes modalidades) em Coimbra. Pode-se observar que as folhas mais recentes (mais próximas da bandeira) já continham algumas incidências de ferrugem nos tratamentos efectuados com fungicida. Contabilização e avaliação de dados do ensaio;
 - **24 de Agosto** - Finalizou-se o terceiro tratamento (nas diferentes modalidades) em Odemira. Contabilização e avaliação de dados do ensaio;
 - **16 de Setembro** – avaliação geral (primeiros pequenos sinais de Helminthosporiose, contagens finais, afectação broca, afectação fusário, etc.) do ensaio em Odemira;
 - **17 de Setembro** – avaliação geral (nenhum sinal da helmintosporiose, contagens finais, afectação broca, afectação fusário, etc.) do ensaio em Coimbra;
 - **1 de Outubro** – avaliação da incidência da helmintosporiose no ensaio de Odemira;
 - **2 de Outubro** – nenhum sinal da incidência da helmintosporiose no ensaio de Coimbra;
 - **15 de Outubro** – observação da incidência da helmintosporiose no ensaio de Odemira (situação estável e incidência da doença idêntica à observação anterior);
 - **4 de Novembro** – Observações e avaliações finais do ensaio de Odemira, seguido de colheita com recurso a mão-de-obra. Guardaram-se amostras de cada talhão para posterior avaliação e foram acondicionados em local apropriado;
 - **9 de Novembro** - Observações e avaliações finais do ensaio de Coimbra, seguido de colheita com recurso a mão-de-obra. Guardaram-se amostras de cada talhão para posterior avaliação e foram acondicionados em local apropriado;
 - **7, 8 e 9 de Dezembro** – Avaliação pós-colheita (peso 1000 grãos) no IPB-ESA de todas as amostras dos ensaios.
-

Anexo XI – Dados climáticos da estação meteorológica da ESAC (Coimbra) em 2010.

Quadro A7 – Dados climáticos (temperatura, humidade relativa, radiação solar global, vento, pluviosidade, ETo e Evaporação Tina) da região de Coimbra em 2010

Meses	TEMPERATURA				HUMIDADE	RADIAÇÃO	VENTO		PLUVIOSIDADE	ETo	Evaporação
	média (°)	máxima (°)	mínima (°)		RELATIVA	SOLAR GLOBAL	VELOC.	DIRECÇÃO			Tina
			abrigo	relva	(%)	(MJ m ⁻² d ⁻¹)	(km/h)		(mm)	(mm)	(mm)
Janeiro	9,7	13,7	6,0	6,2	82,6	5,3	4,7	SE	120,2	26,3	-
Fevereiro	10,1	14,4	6,6	6,3	79,5	7,6	5,6	E	142,6	36,3	-
Março	12,0	17,2	7,7	7,7	75,9	12,0	4,8	S	98,0	60,9	-
Abril	15,7	22,6	9,9	-	71,9	20,5	4,1	E	74,3	99,0	-
Maio	16,9	23,5	10,5	-	70,1	24,9	3,3	NW	14,4	127,3	-
Junho	19,7	26,6	14,7	-	73,6	25,9	-	-	20,9	127,6	-
Julho	22,6	31,4	15,7	15,7	67,8	27,8	-	-	1,2	169,6	205,9
Agosto	22,8	32,4	15,7	16,8	66,3	24,1	-	-	2,0	151,7	169,8
Setembro	20,1	28,2	14,2	-	73,7	19,6	-	-	5,0	107,0	-
Outubro	15,6	22,2	10,6	-	78,7	13,4	3,6	SE	148,2	62,3	-
Novembro	11,6	16,7	7,8	-	84,4	9,1	4,7	SE	98,2	34,2	-
Dezembro	10,5	14,8	6,7	-	77,7	6,0	6,2	SE	141,7	30,6	-

Fonte: Estação meteorológica da ESAC

Anexo XII – Dados climáticos da estação meteorológica do perímetro de rega do Mira (Odemira) entre 2004 e 2011

Quadro A8 – Temperatura média mensal (°C) da região de Odemira entre 2004 e 2011

Temperatura média mensal (°C)								
Meses/Anos	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Jan	12,2	9,7	9,7	10,4	12,4	10,5	12	11,9
Fev	12,0	9,0	10,9	12,7	13,4	11,7	12,4	12,1
Mar	12,5	13,1	13,3	12,4	13,0	14,3	13,4	12,9
Abr	14,4	14,4	15,3	14,1	15,4	13,5	15,9	17,1
Mai	15,9	16,7	17,0	16,1	15,9	17,0	16,8	19,2
Jun	20,2	20,3	19,6	18,1	18,8	20,5	17,5	19,5
Jul	20,3	20,0	21,2	19,6	19,1	19,7	20,4	18,5
Ago	21,0	21,2	21,1	19,6	19,1	20,0	21,5	19,6
Set	19,7	18,8	19,8	19,3	19,0	19,2	19,3	19,6
Out	17,5	18,2	19,1	17,6	16,1	19,2	16,6	18,9
Nov	13,7	12,9	16,2	13,6	11,6	15,3	13,8	
Dez	11,0	11,5	10,8	11,4	11,1	13,5	13,2	

Quadro A9 – Temperatura máxima mensal (°C) da região de Odemira entre 2004 e 2011

Temperatura máxima mensal (°C)								
Meses/Anos	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Jan	16,9	16,9	15,2	16,8	18,2	14,2	15,8	16,2
Fev	17,8	15,5	15,6	16,8	19,0	17,3	15,8	17,6
Mar	17,9	19,0	17,7	18,2	18,5	20,5	17,8	18,4
Abr	20,6	19,5	20,2	19,6	21,0	17,8	21,6	22,8
Mai	21,0	21,9	23,1	21,6	20,4	23,0	21,8	24,6
Jun	26,0	25,8	24,6	22,9	24,8	25,6	21,8	25,2
Jul	26,1	24,9	27,0	25,8	23,7	25,0	26,2	23,6
Ago	26,4	27,3	27,2	25,7	24,7	25,8	28,1	24,7
Set	26,1	25,7	25,3	25,1	24,7	25,2	24,6	26,0
Out	23,0	23,5	24,3	24,6	22,5	25,7	22,1	25,6
Nov	20,1	18,3	21,3	21,3	18,1	20,0	18,5	
Dez	16,4	16,4	16,7	17,3	15,9	17,5	17,2	

Quadro A10 – Humidade relativa média mensal (%) da região de Odemira entre 2004 e 2011

Humidade relativa média mensal (%)								
Meses/Anos	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Jan	87,7	73,7	81,0	84,7	85,9	84,9	83,1	83,6
Fev	84,2	71,3	80,9	87,7	84,0	82,0	84,7	78,7
Mar	79,4	76,3	83,1	77,4	77,2	74,3	77,3	78,1
Abr	74,2	73,6	82,4	81,3	73,4	77,4	76,9	75,3
Mai	79,0	76,5	76,9	79,2	81,6	70,3	72,3	77,0
Jun	78,2	71,9	77,3	81,6	75,5	74,6	83,2	74,3

Jul	74,7	77,7	75,0	76,9	80,9	76,0	77,3	79,9
Ago	80,1	71,2	77,0	75,3	79,8	77,0	72,3	82,4
Set	77,8	74,1	81,5	83,7	79,7	76,6	82,2	76,5
Out	80,4	77,9	83,1	75,8	78,4	78,6	81,0	70,4
Nov	78,7	79,1	85,1	70,5	73,6	83,2	80,8	
Dez	77,5	79,5	81,4	81,0	85,3	84,2	81,1	

Quadro A11 – Velocidade do vento média mensal (km/h) da região de Odemira entre 2004 e 2011

Velocidade do vento média mensal (km/h)								
Meses/Anos	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Jan	1,5	1,5	2,0	1,7	1,9	2,6	2,6	2,5
Fev	1,6	1,9	2,2	2,5	2,4	2,3	3,4	2,3
Mar	2,0	2,2	2,3	2,3	2,5	2,6	2,3	2,1
Abr	1,9	2,2	2,1	2,0	3,0	2,6	2,2	2,1
Mai	2,0	2,0	2,0	2,2	2,2	2,5	2,3	1,9
Jun	1,5	1,7	2,0	2,3	2,0	2,0	2,4	2,1
Jul	1,7	2,0	2,0	2,1	2,3	2,4	2,0	2,6
Ago	1,8	1,6	1,8	1,9	2,3	1,8	1,6	2,1
Set	1,4	1,6	1,8	1,6	2,1	1,8	1,8	1,7
Out	1,9	2,0	2,6	1,9	2,2	1,7	2,0	2,0
Nov	1,6	2,0	2,1	2,0	2,2	2,2	2,1	
Dez	2,1	2,2	2,0	2,1	2,3	3,1	3,1	

Quadro A12 – Precipitação total mensal (mm) da região de Odemira entre 2004 e 2011

Precipitação total mensal (mm)								
Meses/Anos	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Jan	21,1	0,9	70,6	19,2	81,9	97,6	135	64
Fev	65,2	43,5	57,7	76,3	59,9	77	196,8	78,6
Mar	38,5	34,8	100	11,5	20,9	22,5	89,9	76,8
Abr	52,4	3,6	47,4	19,4	70,9	49,6	94,2	133,3
Mai	17,4	16,4	2,1	22,3	35,8	4,5	36	75,1
Jun	1,5	0,4	20,2	19,5	2,4	13,4	23,2	5,3
Jul	2,1	2,2	4,6	2,4	0,3	0,5	2,2	3,1
Ago	12,4	2,5	44	4,9	1,6	1,1	0,8	12,8
Set	6,3	9,1	22,2	21,6	44,1	9,4	4,7	7,8
Out	164,9	154,6	206,5	14,8	30,8	28,6	66,8	105
Nov	38	124,7	154,8	40,3	29	52,3	80,5	
Dez	30,8	46,6	44,9	82,5	60,7	283,1	196,7	

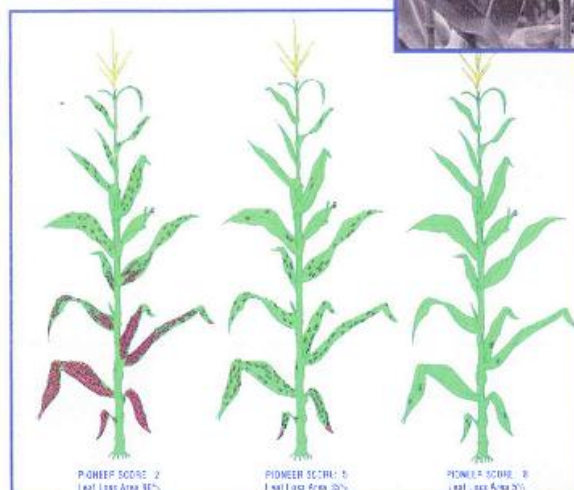
Fonte: Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio

SCORING NORTHERN LEAF BLIGHT

WHEN? 3 to 5 weeks after flowering

HOW?

1. Visually survey the field.
2. Identify the hybrid that appears to be most affected.
3. Choose an area of the plot which is representative of the strip. You should begin sampling at least 2 meters from the end of the row. You should not choose an outside row.
4. Look down the middle two rows and estimate the average infection level for all of the plants found in the next 3 linear meters.
5. Score the hybrid on a 1 - 9 scale (1 being bad, 9 being good) using the pictures to the right as a reference.
6. Enter the hybrid that was scored, the infection level, and the date evaluated on the Data Collection Form.



PIONEER
BRAND PRODUCTS

Pioneer® brand products are provided subject to the terms and conditions of purchase which are part of the labeling and purchase documents. ®, SM TM Trademarks and service marks, registered or applied for, of Pioneer Hi-Bred International, Inc., Des Moines, Iowa, U.S.A. 1999 PHH 012312

NLB *Exserohilum turcicum* (*Helminthosporium turcicum*)

Figura A13 – Escala de pontuação para a helmintosporiose (Fonte: Pioneer Hi-Bred Internacional)

ANEXO XIV – Dados estatísticos do peso 1000 grãos

Quadro A14 – Dados estatísticos do peso de 1000 grãos em função do local e da cultivar

Tukey HSD test; variable Peso 1000 grãos (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 246,11, df = 96,000

	Local	Cultivar	Peso 1000 grãos	1	2	3
3	Mondego	PR35Y65	380,0000	****		
1	Mondego	PR34P88	381,8889	****		
2	Mondego	PR34N43	388,6667	****	****	
4	Mondego	PR35Y69	393,2222	****	****	
5	Odemira	PR34P88	401,1111		****	
7	Odemira	PR35Y65	403,2222		****	****
6	Odemira	PR34N43	403,8889		****	****
8	Odemira	PR35Y69	418,0000			****

Quadro A15 – Dados estatísticos do peso de 1000 grãos em função do local e do tratamento

Tukey HSD test; variable Peso 1000 grãos (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 246,11, df = 96,000

	Local	Tratamento	Peso 1000 grãos	1	2	3	4	5
1	Mondego	Testemunha	383,1667	****				
6	Mondego	Enigma 2	383,3333	****				
4	Mondego	Enigma 1	384,5000	****	****			
5	Mondego	Punch cs 2	387,3333	****	****	****		
2	Mondego	Adubação NPK	387,5000	****	****	****		
3	Mondego	Punch cs 1	389,8333	****	****	****		
7	Odemira	Testemunha	395,5000	****	****	****	****	
8	Odemira	Adubação NPK	395,5000	****	****	****	****	
9	Odemira	Punch cs 1	405,5000		****	****	****	****
10	Odemira	Enigma 1	408,6667			****	****	****
11	Odemira	Punch cs 2	413,5000				****	****

12	Odemira	Enigma 2	420,6667					****
----	---------	----------	----------	--	--	--	--	------

Quadro A16 – Dados estatísticos do peso de 1000 grãos em função da cultivar e do tratamento

Tukey HSD test; variable Peso 1000 grãos (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 246,11, df = 96,000

	Cultivar	Tratamento	Peso 1000 grãos	1	2
13	PR35Y65	Testemunha	382,0000	****	
14	PR35Y65	Adubação NPK	382,3333	****	****
1	PR34P88	Testemunha	385,0000	****	****
15	PR35Y65	Punch cs 1	387,0000	****	****
7	PR34N43	Testemunha	389,3333	****	****
5	PR34P88	Punch cs 2	390,3333	****	****
8	PR34N43	Adubação NPK	391,0000	****	****
4	PR34P88	Enigma 1	392,3333	****	****
2	PR34P88	Adubação NPK	392,6667	****	****
11	PR34N43	Punch cs 2	394,0000	****	****
3	PR34P88	Punch cs 1	394,0000	****	****
6	PR34P88	Enigma 2	394,6667	****	****
10	PR34N43	Enigma 1	395,0000	****	****
18	PR35Y65	Enigma 2	395,3333	****	****
22	PR35Y69	Enigma 1	399,3333	****	****
16	PR35Y65	Enigma 1	399,6667	****	****
20	PR35Y69	Adubação NPK	400,0000	****	****
19	PR35Y69	Testemunha	401,0000	****	****
12	PR34N43	Enigma 2	402,0000	****	****
21	PR35Y69	Punch cs 1	403,3333	****	****
17	PR35Y65	Punch cs 2	403,3333	****	****
9	PR34N43	Punch cs 1	406,3333	****	****

23	PR35Y69	Punch cs 2	414,0000	****	****
24	PR35Y69	Enigma 2	416,0000		****

Quadro A17 – Dados estatísticos do peso de 1000 grãos em função do local, da cultivar e do tratamento

Newman-Keuls test; variable Peso 1000 grãos(Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 246,11, df = 96,000

	Local	Cultivar	Tratamento	Peso 1000 grãos	1	2	3
16	Mondego	PR35Y65	Enigma 1	372,0000	****		
4	Mondego	PR34P88	Enigma 1	374,6667	****		
18	Mondego	PR35Y65	Enigma 2	376,0000	****	****	
6	Mondego	PR34P88	Enigma 2	376,6667	****	****	
1	Mondego	PR34P88	Testemunha	377,3333	****	****	
14	Mondego	PR35Y65	Adubação NPK	378,6667	****	****	
7	Mondego	PR34N43	Testemunha	378,6667	****	****	
13	Mondego	PR35Y65	Testemunha	380,6667	****	****	
37	Odemira	PR35Y65	Testemunha	383,3333	****	****	
15	Mondego	PR35Y65	Punch cs 1	385,3333	****	****	
38	Odemira	PR35Y65	Adubação NPK	386,0000	****	****	
23	Mondego	PR35Y69	Punch cs 2	386,0000	****	****	
2	Mondego	PR34P88	Adubação NPK	386,6667	****	****	
17	Mondego	PR35Y65	Punch cs 2	387,3333	****	****	
11	Mondego	PR34N43	Punch cs 2	387,3333	****	****	
3	Mondego	PR34P88	Punch cs 1	387,3333	****	****	
39	Odemira	PR35Y65	Punch cs 1	388,6667	****	****	
5	Mondego	PR34P88	Punch cs 2	388,6667	****	****	
32	Odemira	PR34N43	Adubação NPK	389,3333	****	****	
12	Mondego	PR34N43	Enigma 2	390,0000	****	****	
9	Mondego	PR34N43	Punch cs 1	390,6667	****	****	

24	Mondego	PR35Y69	Enigma 2	390,6667	****	****	
20	Mondego	PR35Y69	Adubação NPK	392,0000	****	****	
29	Odemira	PR34P88	Punch cs 2	392,0000	****	****	
10	Mondego	PR34N43	Enigma 1	392,6667	****	****	
8	Mondego	PR34N43	Adubação NPK	392,6667	****	****	
25	Odemira	PR34P88	Testemunha	392,6667	****	****	
21	Mondego	PR35Y69	Punch cs 1	396,0000	****	****	****
19	Mondego	PR35Y69	Testemunha	396,0000	****	****	****
34	Odemira	PR34N43	Enigma 1	397,3333	****	****	****
26	Odemira	PR34P88	Adubação NPK	398,6667	****	****	****
22	Mondego	PR35Y69	Enigma 1	398,6667	****	****	****
31	Odemira	PR34N43	Testemunha	400,0000	****	****	****
46	Odemira	PR35Y69	Enigma 1	400,0000	****	****	****
35	Odemira	PR34N43	Punch cs 2	400,6667	****	****	****
27	Odemira	PR34P88	Punch cs 1	400,6667	****	****	****
43	Odemira	PR35Y69	Testemunha	406,0000	****	****	****
44	Odemira	PR35Y69	Adubação NPK	408,0000	****	****	****
28	Odemira	PR34P88	Enigma 1	410,0000	****	****	****
45	Odemira	PR35Y69	Punch cs 1	410,6667	****	****	****
30	Odemira	PR34P88	Enigma 2	412,6667	****	****	****
36	Odemira	PR34N43	Enigma 2	414,0000	****	****	****
42	Odemira	PR35Y65	Enigma 2	414,6667	****	****	****
41	Odemira	PR35Y65	Punch cs 2	419,3333	****	****	****
33	Odemira	PR34N43	Punch cs 1	422,0000	****	****	****
40	Odemira	PR35Y65	Enigma 1	427,3333		****	****
48	Odemira	PR35Y69	Enigma 2	441,3333			****
47	Odemira	PR35Y69	Punch cs 2	442,0000			****

ANEXO XV – Dados estatísticos do peso específico

Quadro A18 – Dados estatísticos do peso específico em função do local e da cultivar

Tukey HSD test; variable Peso Específico (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,2361, df = 96,000

	Local	Cultivar	Peso Específico	1	2	3	4
5	Odemira	PR34P88	67,88889	****			
1	Mondego	PR34P88	68,11111	****	****		
8	Odemira	PR35Y69	69,16667	****	****	****	
7	Odemira	PR35Y65	69,55556		****	****	****
2	Mondego	PR34N43	69,61111		****	****	****
3	Mondego	PR35Y65	70,50000			****	****
6	Odemira	PR34N43	70,61111			****	****
4	Mondego	PR35Y69	70,97222				****

Quadro A19 – Dados estatísticos do peso específico em função do local e do tratamento

Tukey HSD test; variable Peso Específico (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,2361, df = 96,000

	Local	Tratamento	Peso Específico	1
10	Odemira	Enigma 1	68,83333	****
12	Odemira	Enigma 2	68,91667	****
7	Odemira	Testemunha	68,91667	****
9	Odemira	Punch cs 1	69,33333	****
1	Mondego	Testemunha	69,50000	****
3	Mondego	Punch cs 1	69,54167	****
5	Mondego	Punch cs 2	69,62500	****
6	Mondego	Enigma 2	69,75000	****
8	Odemira	Adução NPK	69,91667	****
11	Odemira	Punch cs 2	69,91667	****
4	Mondego	Enigma 1	70,12500	****

2	Mondego	Adubação NPK	70,25000	****
---	---------	--------------	----------	------

Quadro A20 – Dados estatísticos do peso específico em função da cultivar e do tratamento

Tukey HSD test; variable Peso Específico (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,2361, df = 96,000

	Cultivar	Tratamento	Peso Específico	1	2	3
4	PR34P88	Enigma 1	67,58333	****		
1	PR34P88	Testemunha	67,75000	****	****	
6	PR34P88	Enigma 2	67,91667	****	****	
3	PR34P88	Punch cs 1	68,08333	****	****	****
2	PR34P88	Adubação NPK	68,16667	****	****	****
5	PR34P88	Punch cs 2	68,50000	****	****	****
22	PR35Y69	Enigma 1	68,91667	****	****	****
24	PR35Y69	Enigma 2	69,16667	****	****	****
13	PR35Y65	Testemunha	69,16667	****	****	****
9	PR34N43	Punch cs 1	69,41667	****	****	****
15	PR35Y65	Punch cs 1	69,66667	****	****	****
18	PR35Y65	Enigma 2	69,83333	****	****	****
11	PR34N43	Punch cs 2	69,91667	****	****	****
19	PR35Y69	Testemunha	69,91667	****	****	****
7	PR34N43	Testemunha	70,00000	****	****	****
8	PR34N43	Adubação NPK	70,00000	****	****	****
17	PR35Y65	Punch cs 2	70,08333	****	****	****
12	PR34N43	Enigma 2	70,41667	****	****	****
16	PR35Y65	Enigma 1	70,50000	****	****	****
23	PR35Y69	Punch cs 2	70,58333	****	****	****
21	PR35Y69	Punch cs 1	70,58333	****	****	****
10	PR34N43	Enigma 1	70,91667		****	****

14	PR35Y65	Adubação NPK	70,91667		****	****
20	PR35Y69	Adubação NPK	71,25000			****

Quadro A21 – Dados estatísticos do peso específico em função do local, da cultivar e do tratamento

Tukey HSD test; variable Peso Específico (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,2361, df = 96,000

	Local	Cultivar	Tratamento	Peso Específico	1	2
28	Odemira	PR34P88	Enigma 1	66,00000	****	
6	Mondego	PR34P88	Enigma 2	67,16667	****	****
46	Odemira	PR35Y69	Enigma 1	67,33333	****	****
1	Mondego	PR34P88	Testemunha	67,50000	****	****
48	Odemira	PR35Y69	Enigma 2	67,66667	****	****
26	Odemira	PR34P88	Adubação NPK	67,66667	****	****
5	Mondego	PR34P88	Punch cs 2	68,00000	****	****
27	Odemira	PR34P88	Punch cs 1	68,00000	****	****
25	Odemira	PR34P88	Testemunha	68,00000	****	****
3	Mondego	PR34P88	Punch cs 1	68,16667	****	****
37	Odemira	PR35Y65	Testemunha	68,33333	****	****
9	Mondego	PR34N43	Punch cs 1	68,50000	****	****
2	Mondego	PR34P88	Adubação NPK	68,66667	****	****
30	Odemira	PR34P88	Enigma 2	68,66667	****	****
42	Odemira	PR35Y65	Enigma 2	69,00000	****	****
29	Odemira	PR34P88	Punch cs 2	69,00000	****	****
43	Odemira	PR35Y69	Testemunha	69,00000	****	****
4	Mondego	PR34P88	Enigma 1	69,16667	****	****
8	Mondego	PR34N43	Adubação NPK	69,33333	****	****
39	Odemira	PR35Y65	Punch cs 1	69,33333	****	****
11	Mondego	PR34N43	Punch cs 2	69,50000	****	****

45	Odemira	PR35Y69	Punch cs 1	69,66667	****	****
41	Odemira	PR35Y65	Punch cs 2	69,66667	****	****
7	Mondego	PR34N43	Testemunha	69,66667	****	****
15	Mondego	PR35Y65	Punch cs 1	70,00000	****	****
13	Mondego	PR35Y65	Testemunha	70,00000	****	****
10	Mondego	PR34N43	Enigma 1	70,16667	****	****
40	Odemira	PR35Y65	Enigma 1	70,33333	****	****
36	Odemira	PR34N43	Enigma 2	70,33333	****	****
35	Odemira	PR34N43	Punch cs 2	70,33333	****	****
31	Odemira	PR34N43	Testemunha	70,33333	****	****
33	Odemira	PR34N43	Punch cs 1	70,33333	****	****
23	Mondego	PR35Y69	Punch cs 2	70,50000	****	****
17	Mondego	PR35Y65	Punch cs 2	70,50000	****	****
12	Mondego	PR34N43	Enigma 2	70,50000	****	****
22	Mondego	PR35Y69	Enigma 1	70,50000	****	****
47	Odemira	PR35Y69	Punch cs 2	70,66667	****	****
16	Mondego	PR35Y65	Enigma 1	70,66667	****	****
18	Mondego	PR35Y65	Enigma 2	70,66667	****	****
38	Odemira	PR35Y65	Adubação NPK	70,66667	****	****
32	Odemira	PR34N43	Adubação NPK	70,66667	****	****
44	Odemira	PR35Y69	Adubação NPK	70,66667	****	****
24	Mondego	PR35Y69	Enigma 2	70,66667	****	****
19	Mondego	PR35Y69	Testemunha	70,83333	****	****
14	Mondego	PR35Y65	Adubação NPK	71,16667		****
21	Mondego	PR35Y69	Punch cs 1	71,50000		****
34	Odemira	PR34N43	Enigma 1	71,66667		****
20	Mondego	PR35Y69	Adubação NPK	71,83333		****

Anexo XVI – Correlação entre rendimento e severidade à helmintosporiose das cultivares em função dos anos e das cultivares (dados Pioneer Hi-Bred Portugal)

Quadro A22 – Correlação entre o rendimento e a severidade à helmintosporiose das cultivares em função dos anos. Dados Coimbra 1997 e 1999.

Anos	Correlação (rendimento x severidade)
1997	0,22
1999	0,28

Quadro A23 – Correlação entre o rendimento e a severidade à helmintosporiose nos vários anos em função das cultivares (PR34N43 e PR34P88). Dados Odemira 2004 a 2010.

Cultivares	Correlação (rendimento x severidade)
PR34N43	0,62
PR34P88	0,36
