UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JOÃO BATISTA GONÇALVES DIAS DA SILVA

Biofertilizante a base de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) no controle de doenças foliares do milho (*Zea mays* L.)

MARINGÁ

JOÃO BATISTA GONÇALVES DIAS DA SILVA

Biofertilizante a base de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) no controle das doenças foliares do milho (*Zea mays* L.)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Área de concentração: Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Kátia Regina Freitas Schwan Estrada.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

S586b

Silva, João Batista Gonçalves Dias da
Biofertilizante a base de capim-limão (Cymbopogon
citratus) no controle de doenças foliares do milho
(Zea mays L.) / João Batista Gonçalves Dias da
Silva. -- Maringá, 2017.

xv, 106 f. : il. color., figs., tabs.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Kátia Regina Freitas Schwan Estrada.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.

1. Ferrugem do milho - Controle alternativo. 2.

Mancha de cercospora - Controle alternativo. 3.

Controle alternativo - Milho - Segunda safra. I.

Schwan-Estrada, Kátia Regina Freitas, orient. II.

Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências

Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de

Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD 21.ed. 633.1594

JOÃO BATISTA GONÇALVES DIAS DA SILVA

BIOFERTILIZANTE A BASE DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) NO CONTROLE DE DOENÇAS FOLIARES DE MILHO (*Zea mays* L.)

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, na área de concentração em Proteção de Plantas, para obenção do título de Doutor.

APROVADA em 27 de novembro de 2017.

Prof^a. Dr^a **Kátia Regina Freitas Schwan Estrada** Presidente

Prof^a. Dr^a. Edilaine Maurícia Gelinski Grabicoski Membro

Prof^a. Dr^a Maria Marcelina Millan Rupp Membro

Prof^a. Dr^a. **Solange Maria Bonaldo** Membro

Prof. Dr. **José Renato Stangarlin** (vídeo conferência) Membro

Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes. Assim em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive. (Fernando Pessoa)

Dedico esse trabalho, resultado de uma importante etapa da minha vida, aos meus filhos João Pedro, Maria Alice e Maria Augusta, pelo sentimento que nos une.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela disposição e saúde durante esse período de trabalho mais acentuado, pela ajuda na superação das adversidades e pela contemplação de muitos momentos de alegria.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de aprimoramento, das experiências do conhecimento.

Agradeço à professora Dr^a Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada, orientadora e amiga, pelo seu apoio e dedicação em todas as etapas deste trabalho.

Ao professor Dr Dauri José Tessmann, pelo apoio, incentivo e amizade.

À professora Dr^a Lia Mara Moterle, em especial, pelo apoio, disponibilidade e suporte no desenvolvimento do trabalho.

Aos demais professores e a todos os funcionários do Programa de Pós-graduação em Agronomia da UEM, pela amizade e incentivo.

À COCARI - Cooperativa Agropecuária e Industrial - em especial ao presidente Sr. Vilmar Sebastião Sebold, por proporcionar este período de aperfeiçoamento humano e profissional.

Aos colegas do Centro Tecnológico pelo apoio no desenvolvimento dos trabalhos.

A todos os colegas do Laboratório de Controle Alternativo e Indução de Resistência e do Programa de Pós-graduação de Agronomia, pelo companheirismo e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os que, de alguma forma, colaboraram para a conclusão desta tese, pois nunca vencemos sozinhos.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

JOÃO BATISTA GONÇALVES DIAS DA SILVA, filho de João Carlos da Silva (*in memorian*) e de Therezinha Gonçalves Dias (*in memorian*), nasceu em Cianorte – Paraná, em 17 de maio 1965.

Graduou-se em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM) em fevereiro de 1992.

Concluiu o Curso de especialização em Proteção de Plantas, *Latu Sensu*, na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 1997.

Concluiu o Curso de Pós-Graduação em nível de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá, em 2011.

Em março de 2014, iniciou o Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Proteção de Plantas, no Programa de Pós-Graduação Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, sob orientação da Prof^a Dr^a Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada, concluindo com este trabalho as exigências necessárias à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Biofertilizante a base de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) no controle de doenças foliares do milho (*Zea mays* L.)

RESUMO GERAL

Este trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho de um biofertilizante, acrescido da planta medicinal capim-limão (Cymbopogon citratus), no controle das doenças foliares do milho: mancha branca (Pantoea ananatis ou mancha de Phaeosphaeria), mancha de helmintosporiose comum (Exserohilum turcicum), ferrugem (Puccinia sorghi), mancha ocular (Kabatiella zeae) e mancha de cercospora (Cercospora zeae-maydis). O biofertilizante foi produzido por fermentação anaeróbica, por 30 dias. Os ingredientes foram: folhas frescas de capim-limão, leite cru, caldo de cana, farinha de ossos, cinza, casca de ovos e levedura para um volume de 20 L. Os experimentos de campo constituíram de arranjo fatorial das doses de biofertilizante e fungicida em dois híbridos de milho MG 652 PW e MG 30A95 HX, no Centro Tecnológico da Cocari, em Mandaguari-PR, nos meses de fevereiro a agosto, nos anos de 2014 e 2015. No primeiro ano, os tratamentos constituíram-se de doses de biofertilizante nas concentrações 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 L ha⁻¹, Fungicida 0,3 L ha⁻¹ epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹, mais óleo mineral 0,5 % e testemunha (água), pulverizados nas parcelas nas fases fenológicas V10 e R1 (dez folhas desenvolvidas e florescimento). No segundo ano, os tratamentos com biofertilizante compuseram-se de uma a cinco aplicações seqüenciais numa única concentração (2,0 L ha⁻¹) e de fungicida, em intervalos regulares. No experimento em casa de vegetação, as plantas de milho foram inoculadas com Cercospora zeina e submetidas aos tratamentos, de uma a cinco aplicações, na concentração de 2,0 L ha⁻¹ e fungicida, em intervalos regulares. Nos experimentos de campo, avaliou-se a severidade das doenças foliares do milho, utilizando-se escalas diagramáticas, para posterior determinação da área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPD), bem como determinou-se o teor de clorofila pelo índice SPAD - Soil Plant Analysis Development, utilizando medidor clorofilômetro com 3 anotações a cada 15 dias entre cada avaliação. Além disso, procedeu-se à avaliação do NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) com o radiômetro portátil GreenSeeker®. Buscando investigar ganhos no rendimento das plantas, foram avaliadas as características agronômicas altura das plantas e prolificidade, também os componentes de rendimentos produtividade e massa de mil grãos. Os valores da AACPD obtidos nos

experimentos de campo são baixos, apesar de a mancha ocular apresentar valores um pouco maiores. Possivelmente, esta AACPD baixa foi devido aos fatores climáticos desfavoráveis às doenças. No primeiro experimento, a mancha de ferrugem no tratamento com 4,0 L ha⁻¹ de biofertilizante, no híbrido MG 652 PW, reduziu 14% da AACPD. O mesmo híbrido para mancha de cercospora atingiu ponto de máximo controle utilizando 4,67 L ha⁻¹ de biofertilizante, com R² 0,83 (função quadrática). O híbrido MG 652 PW, para mancha ocular e mancha de cercospora, apresenta igual suscetibilidade. Todavia, para as demais doenças, não apresenta diferença significativa entre eles. Comparando os tratamentos de biofertilizante com o fungicida, verifica-se para este controle igual ou superior ao biofertilizante. Para os índices SPAD e NDVI, os tratamentos não apresentaram diferença significativa. Para altura (cm) de plantas, apenas o híbrido MG 652 PW demonstrou diferença significativa entre os tratamentos. Para as variáveis prolificidade, massa de mil grãos e produtividade, não houve diferença significativa entre os tratamentos com biofertilizante. No ensaio na casa de vegetação, determinou-se a severidade da cercospora, as características agronômicas (altura de plantas, espessura de colmo, massa fresca e massa seca) e clorofila. O biofertilizante reduziu a AACPD da mancha de cercospora em 35%, com cinco aplicações em intervalos regulares. As demais variáveis não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Com base nos resultados, pode-se inferir que o biofertilizante apresenta potencial para auxiliar no manejo das doenças foliares do milho, mas existe a necessidade de novas pesquisas para avaliar mais satisfatoriamente essa prática.

Palavras-chave: ferrugem do milho, mancha de cercospora, controle alternativo, milho segunda safra.

Biofertilizer based on lemon grass (*Cymbopogon citratus*) to control the corn leaf diseases

MAIN ABSTRACT

This work was aimed at evaluating the performance of the biofertilizer, added of lemon grass medicinal plant (Cymbopogon citratus), to control the leaf corn diseases: white spot (Pantoeae ananas or Phaeosphaeria sp.), spot of common helmintosporiosis (Exserohilum turcicum), rusty (Puccinia sorghi), eyespot (Kabatiella zeae) and cercospora spot (Cercospora zeae-maydis). The biofertilizer was made by thirty days of an anaerobic fermentation system. The ingredients were; fresh leaves of grass lemon, raw milk, sugar cane juice, bone meal, ash, egg shell and yeast to a 20 L. volume. The field experiments were arranged on factorial design of doses of biofertilizer and fungicide with two corn hybrids MG 652 PW and MG 30A95 HX in the Cocari Technological Center in the months of February to August 2014 and 2015. In the first year the treatments were doses of biofertilizer on concentrations of 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, and 8,0 L ha⁻¹, Abacus Fungicide 0,3 L ha⁻¹ epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹, plus mineral oil 0,5 % and control (water), sprayed in the plots in the phases V10 and R1 (ten leaves developed and flowering). In the second year, the biofertilizer treatments had five sequential applications in a unique concentration (2,0 L ha⁻¹) and fungicide on regular intervals. In the greenhouse essay experiments the corn plants were inoculated with Cercospora zeina Crous and undertaken treatments one to five fungicide applications, in the concentration of 2,0 L ha⁻¹ in regular intervals. In the field experiments it was measured the severity of the leaf diseases on corn determined, based on diagrammatic scales, for later evaluation of area under the progress curve of the diseases (AACPD). This way, it was measured chlorophyll rates by SPAD- Soil Plant Analysis Development, index by the chlorophyll meter with three readings each fifteen days for each evaluation, also it was done evaluation by NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) with a portable radiometer GreenSeeker®. In order to evaluate gains on plant production it was evaluated the agronomic characteristics as height and prolificacy and productivity components, mass of thousand grains. The obtained values of AACPD were statistically low, besides the eyespot presented values slightly higher. Possibly this low AACPD is due to unfavorable climatic factors to the

diseases. In the first experiment the rusty spot with treatment of 4,0 L ha⁻¹ of biofertilizer, for hybrid MG 652 PW, reduced 14% of AACPD. The same hybrid for cercospora spot reached the maximum control point at 4,67 L ha⁻¹ of biofertilizer, with R² 0,83 (quadratic function). The MG 652 PW hybrid, for ocular spot and cercospora spot, shows the same susceptibility, although to the remaining diseases showed no significant difference. Comparing the treatments of biofertilizer with fungicides, it was observed equal or superior control to biofertilizer. For the SPAD and NDVI indexes the treatment had no significant difference. For plant height (cm) only the hybrid MG 652 PW showed a significant difference among treatments. To prolificacy variables, thousand grains mass, and productivity there was no significant difference between treatments with biofertilizer. In the greenhouse essays measured cercospora severity, the agronomic characteristics (plant height, stalk thickness, fresh and dried mass) and chlorophyll. The biofertilizer reduced AACPD on cercospora spot at 35%, with five applications at regular intervals. The other variable showed no significant differences among treatments. According to the results, it can be inferred that the biofertilizer presents a potential to improve leaf disease management of corn. Nevertheless, there is a need of further research to evaluate such practice.

Keywords: corn rusty, cercospora spot, alternative control, second crop corn.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.	Caracterização química dos bioformulados quanto aos teores de nutrientes, Maringá-PR. 2016	42
Tabela 2.	Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD da mancha de Cercospora em dois híbridos de milho, sob a aplicação de doses de biofertilizante, em diferentes épocas de aplicação em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016	47
Tabela 3.	Teor de clorofila de dois híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em diferentes épocas de aplicação em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016	47
Tabela 4.	Altura de plantas (cm) e espessura do colmo (mm) de dois híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em diferentes épocas de aplicação, em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016	49
Tabela 5.	Massa (g) fresca e seca de plantas de dois híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em diferentes épocas de aplicação, em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016	50
CAPÍTULO	0 2	
Tabela 1.	Caracterização química do biofertilizante quanto aos teores de nutrientes, Mandaguari, PR	62
Tabela 2.	Análise química do solo da área experimental COCARI- Mandaguari-PR	63
Tabela 3.	Caracterização dos híbridos de milho utilizados nos experimentos	64
Tabela 4.	Tratamentos foliares com biofertilizantes e fungicidas utilizados no primeiro experimento, segunda safra 2014, e estádios fenológicos das aplicações	65
Tabela 5.	Tratamentos foliares com biofertilizante (2,0 L ha ⁻¹) e fungicida, utilizados no segundo experimento - segunda safra 2015 - e período das aplicações	65
Tabela 6.	Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD de mancha ocular (Kabatiella zeae), ferrugem (Puccinia sorghi), mancha de Cercospora (Cercospora zeae-maydis), mancha branca (Pantoea ananatis, Phaeosphaeria maydis) e mancha de helmintosporiose (Exserohilum	

	turcicum) de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em comparação com a testemunha fungicida, no campo, Mandaguari, PR, 2014	72
Tabela 7.	Índice SPAD e NDVI de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2014	74
Tabela 8.	Resultados médios da altura de plantas e prolificidade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2014	76
Tabela 9.	Resultados médios da massa de mil grãos e da produtividade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2014	78
Tabela 10.	Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD de mancha ocular (Kabatiella zeae), ferrugem (Puccinia sorghi), mancha de Cercospora (Cercospora zeae-maydis), mancha branca (Pantoea ananatis, Phaeosphaeria maydis) e mancha de helmintosporiose (Exserohilum turcicum) de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em comparação com a testemunha fungicida, no campo, Mandaguari, PR, 2015	83
Tabela 11.	Índice SPAD e NDVI de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2015	85
Tabela 12.	Resultados médios da altura de plantas e prolificidade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2015	
Tabela 13.	Resultados médios da massa de mil grãos e da produtividade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2015	88 89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mancha branca em milho	7
Figura 2.	Mancha ocular do milho	10
Figura 3.	Cercospora em milho.	12
Figura 4.	Helminthosporiose em milho.	14
Figura 5.	Ferrugem comum do milho	16

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	vii
MAIN ABSTRACT	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A importância da cultura do milho	3
2.2 Doenças foliares do milho	4
2.2.1 Mancha branca	4
2.2.2 Mancha ocular	8
2.2.3 Cercospora	11
2.2.4 Helmintosporiose	13
2.2.5 Ferrugem comum	15
2.3 Controle alternativo de doenças de plantas	17
2.4 Biofertilizantes no controle de doenças de plantas	19
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO 1 Efeito do número de aplicações de biofertilizante para contro	ole de
Cercospora zeina na cultura do milho, em casa de vegetação	37
RESUMO	37
1 INTRODUÇÃO	39
2 MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Obtenção do patógeno, manutenção e preparo do inóculo de Cercospora	1
zeina Crous & U. Braun	41
2.2 Instalação do experimento em casa de vegetação	41
2.3 Inoculação do patógeno <i>Cercospora zeina</i>	42
2.4 Tratamentos para controle de <i>Cercospora zeina</i>	42
2.5 Avaliação de severidade de cercosporiose	43
2.6 Avaliações das características agronômicas	43
2.7 Determinação do teor de clorofila	44
2.8 Análise estatística	44

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3.1 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) a partir da severio	lade
de cercospora	45
3.2 Determinação de clorofila	47
3.3 Avaliações das características agronômicas	48
3.3.1 Altura de planta e espessura de colmo	48
3.3.2 Massa fresca e massa seca	50
4 CONCLUSÕES	52
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
CAPÍTULO 2 Utilização de biofertilizante em diferentes concentrações e númer	o de
aplicações para o controle de doenças foliares da cultura do milho no campo	58
RESUMO	58
1 INTRODUÇÃO	61
2 MATERIAL E MÉTODOS	63
2.1 Produção do Biofertilizante	63
2.2 Instalação do experimento no campo	63
2.3 Caracterização dos tratamentos aplicados	65
2.4 Avaliação da severidade e cálculo da área abaixo da curva do progresso d	а
doença (AACPD)	66
2.5 Avaliação do índice de clorofila SPAD - Soil Plant Analysis Development	67
2.6 Avaliação do índice diferença de vegetação normalizada - NDVI	67
2.7 Avaliações das características agronômicas e componentes de rendimento	68
2.7.1 Altura das plantas e prolificidade	68
2.7.2 Avaliação dos componentes de rendimentos produtividade e massa de mil grãos	s68
2.8 Análise estatística	68
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
3.1 Experimento 1 (safra 2014)	70
3.1.1 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) das doenças foliare	es do
milho	70
3.1.2 Índice de clorofila SPAD e NDVI	74
3.1.3 Avaliações das características agronômicas e componentes de rendimento	76
3.1.3.1 Características agronômicas altura das plantas e prolificidade	76
3.1.3.2 Componentes de rendimento massa de mil grãos e produtividade	78
3.2 Experimento 2 (safra 2015)	80

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
4 CONCLUSÕES	91
3.2.3.1 Características agronômicas altura das plantas e prolificidade	86
3.2.3 Avaliações das características agronômicas e componentes de rendimento	86
3.2.2 Índice de clorofila SPAD e NDVI	85
milho	80
3.2.1 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) das doenças foliare	es do

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados em todo o mundo, apresentando grande importância na cadeia alimentar, na econômica e também pela sua relevância agronômica no sistema de plantio direto, sendo uma das plantas mais eficientes da natureza no armazenamento de energia (BEZERRA et al., 2008). Supõe-se que sua origem seja americana, de uma planta conhecida como Teosinte, uma gramínea com várias espigas sem sabugo que pode cruzar naturalmente com o milho e gerar descendentes férteis (GALINAT, 1995). O cultivo do milho é realizado desde períodos pré-colombianos, no entanto, os europeus o conheceram somente depois do descobrimento das Américas (SILVA, 2011).

O milho é o cereal mais importante produzido no Brasil, plantado em cerca de 17,5 milhões de hectares, com produção aproximada de 97,2 milhões de toneladas na safra 2016/17, 14,8% acima das 84,7 milhões de toneladas colhidas na safra 2015/16, com rendimento médio de 5.563 quilos por hectare, muito abaixo dos melhores produtores que colhem acima de 12,0 toneladas por hectare. O maior estado produtor é o Mato Grosso, que colhe 27,7 milhões de toneladas; em seguida vem o Paraná, com 18,3 milhões de toneladas; Minas Gerais, com 7,6 milhões de toneladas; e Rio Grande do Sul, com 6,0 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

As doenças na cultura do milho têm avolumado nos últimos anos, em decorrência, sobretudo, da expansão da área cultivada, do sistema de plantio direto com cultivos consecutivos e da ausência de rotação de culturas (PINTO, SANTOS e WRUCK, 2006). Segundo Rezende et al. (2011), doença é uma interferência contínua nos processos fisiológicos da planta, de maneira que as funções vitais ficam alteradas, prejudicando sua eficiência fisiológica, o que provoca um desequilíbrio no balanço energético. Desde a década de 90, as doenças têm acometido com maior intensidade as lavouras de milho. Relatos de perdas de produção tornaram-se freqüentes nas regiões produtoras de todo o país, a exemplo da epidemia de cercosporiose na região sudeste de Goiás, em 2000, com perdas superiores a 80% na produtividade (SILVA et al., 2015).

Segundo Kimati et al. (2011), doenças de plantas podem produzir enormes prejuízos, de forma que as perdas de produção agrícola mundial podem ser estimadas em 30% a cada ano, por problemas fitossanitários. Levantamento realizado pela Embrapa Milho e Sorgo, até agora, já registrou reduções de produção causada por doenças na cultura do milho nos

seguintes porcentuais: enfezamentos (Maize Bushy Stunt Phytoplasma - Spiroplasma kunkelii Whitcomb) - 100 %, ferrugem (Puccinia sorghi Schwein) - 80%, Mancha de phaeosphaeria (Phaeosphaeria maydis P. Henn. e Pantoea ananatis pv. Ananatis (syn. Erwinia ananas) — 63%, mosaico comum (Maize dwarf mosaic virus-MDMV) - 50 % e raiado fino (Maize rayado fino vírus-MRFV) - 30%. As doenças podem ocorrer de forma epidêmica, prejudicando até 100 % das plantas na lavoura (DUARTE et al., 2006). Conforme Juliatti et al. (2007), com o aumento da área plantada das lavouras de milho, foi favorecido o desenvolvimento de várias doenças, antes consideradas secundárias, com destaque para as enfermidades foliares, como a mancha de Phaeosphaeria causada por Phaeosphaeria (Phyllosticta, Phoma) maydis P. Henn., as ferrugens causadas por Puccinia polysora Underw e Puccinia sorghi Schw e, mais recentemente, a mancha de Cercospora, causada por Cercospora zeae-maydis Tehon e Daniels.

Os produtores rurais vêm utilizando os biofertilizantes líquidos, como fermentados microbianos enriquecidos, com bons resultados no controle fitossanitário preventivo e no manejo de pragas e doenças. Estudo realizado por Araújo et al. (2008) com composto orgânico e biofertilizante supermagro em cafeeiro descreveram um aumento da produção de matéria seca. Mesma tendência foi demonstrado por Oliveira et al. (2009), em pimentão, sob diferentes fontes e concentrações de matéria orgânica. Os biofertilizantes são ricos em nutrientes e têm efeito fungistático, bacteriostático, inseticida, repelente e ação de hormônios vegetais, considerando suas propriedades, poderiam proporcionar um manejo mais ecológico das culturas nas propriedades agrícolas (SANTOS e AKIBA, 1996).

Os grupos microbianos, com sua riqueza de diversidade e complexidade, como bactérias, leveduras e actinobacterias, estão presentes nos biofertilizantes. De acordo com Kupper et al. (2006), ao ser aplicado biofertilizante, existe a possibilidade dos microrganismos presentes ativarem mecanismos de defesa da planta. De modo semelhante, estudos de Medeiros e D'Andrea (2004) demonstraram que biofertilizantes contêm células vivas ou latentes de microrganismos (bactérias, leveduras, algas, protozoários e fungos filamentosos), metabólitos e quelatos organominerais. Desta forma, esses produtos podem ser introduzidos nos agroecossistemas por meio de pulverizações foliares, fertirrigação ou aplicados diretamente no solo.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de biofertilizante, à base de planta medicinal, no controle das doenças foliares do milho, em casa de vegetação e, no período de segunda safra, no campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A importância da cultura do milho

As pesquisas arqueológicas e geológicas reuniem subsídios que permitem afirmar que o milho foi domesticado e existia como lavoura há cerca de 5.000 anos. Essa planta tem como centro de origem o México e a América Central. O intenso nível de domesticação ao longo dos anos e o melhoramento genético tornaram essa espécie completamente dependente do homem. Possivelmente, o milho seja uma das mais extraordinárias plantas comerciais com origem nas Américas (BUCKLER e STEVENS, 2005).

O milho é uma planta monocotiledônea, anual, alógama, em que a fecundação cruzada tem uma frequência de 90%. Nessa espécie, apresentam-se dois mecanismos que favorecem essa alogamia: a monoicia e protandria. Considerada uma planta de fotossíntese C4, o milho apresenta elevado potencial produtivo, devido à grande eficiência na conversão de energia radiante e produção de biomassa. Essa planta é pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae, gênero Zea e espécie *Zea mays* L. (BORÉM e GIÚDICE, 2004).

O milho é alimento rico em carboidratos, sendo fonte de óleo, fibras, vitaminas E, B1, B2 e ácido pantotênico, além de alguns minerais, como fósforo e potássio (MATOS et al., 2006). Possui um papel econômico e social muito importante, com aplicações na alimentação animal, com maior volume dispensado, e também na alimentação humana e matéria prima importante para o complexo industrial e diversificado, devido ao grande potencial produtivo e demais características de qualidade nutricional (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000).

O Brasil é atualmente o terceiro maior produtor mundial de milho, com mais de 97,2 milhões de toneladas produzidas na última safra (CONAB, 2017). Entretanto, mesmo exportando anualmente 20% de sua produção, com volume estimado de 25 milhões de toneladas, o Brasil apresenta uma das produtividades mais baixas entre os exportadores mundiais (ABRAMILHO, 2015). Entre os fatores que colaboram com essa baixa produtividade, as doenças têm merecido importante atenção devido às perdas que causam. (BOMFETI et al., 2008).

A área cultivada com o milho na segunda safra no Brasil em 2017 foi de 12,0 milhões de hectares; a produtividade média obtida foi de 5.564 kg.ha⁻¹ e a produção obtida foi de 67,0 milhões de toneladas. Este cereal é produzido basicamente nos estados do PR, do MT,

de GO, de SP, do MS (CONAB, 2017). Os Estados do Paraná e Mato Grosso são os maiores produtores. O cultivo de milho segunda safra, no Paraná, estabeleceu-se no cenário agrícola (SHIOGA et al., 2012). Os Estados do Paraná e do Mato Grosso produziram, em média, 5.614 kg.ha⁻¹ e 6.160 kg ha⁻¹, respectivamente, (CONAB, 2017) e a produção do milho segunda safra tornou-se a melhor opção aos agricultores para o período de outono-inverno. A produtividade do milho, em determinadas regiões na segunda safra, permite afirmar a importância desta lavoura, que deixou de ser somente uma opção de inverno, com o abandono do plantio da cultura de trigo por grande parte dos agricultores paranaenses, para ser um cultivo rentável, em que a colheita ocorre num período com preços mais atrativos (FORNASIERI FILHO, 2007).

Com o crescimento da área de plantio de milho segunda safra, a ocorrência de doenças vem se tornando maior a cada plantio, causando grandes prejuízos aos agricultores. As perdas ocorrem principalmente pelo aumento de cultivo do milho em áreas irrigadas, ausência de rotação de culturas e utilização de cultivares suscetíveis, fatores que colaboram principalmente para o aumento da sobrevivência dos fitopatógenos no campo (COSTA et al., 2009). Nesse ambiente, ocorre maior severidade das doenças e favorece a ocorrência de outras doenças consideradas secundárias para a cultura (CASA et al., 2006). Além desses fatores, a ampliação da área semeada em plantio direto proporcionou uma alteração no agroecossistema, com conseqüências para populações dos patossistemas do milho (REIS et al., 2004).

Conforme estudos da Embrapa (2006) sobre a economia do milho, o rendimento e o nível da tecnologia utilizados no cultivo em segunda safra, nas regiões especializadas e com maiores áreas de cultivo, depende da época de plantio: quando o milho é plantado mais cedo, a aplicação de insumos e o nível de investimentos é similar à da safra da soja; quando, por motivos climáticos, principalmente aqueles que atrasam o plantio da soja, seu plantio é feito mais tarde, o produtor diminui o nível tecnológico do cultivo, modera a aplicação de insumos para reduzir o risco do investimento (secas, geadas ou frio excessivo).

Ainda que a cultura do milho venha ganhando um aspecto empresarial, sua produção ainda é base de subsistência para pequenas propriedades rurais, principalmente nas regiões Norte e Nordeste e em parte da região Sul (MAPA, 2007).

2.2 Doenças foliares do milho

2.2.1 Mancha branca

A mancha branca do milho ou mancha de Phaeosphaeria foi relatada pela primeira

vez em 1902, a partir de plantas coletadas no estado de São Paulo, quando se adotou a nomenclatura *Sphaerulina maydis* (HENNINGS, 1902). Na Índia (RANE et al., 1966), nos EUA (CARSON et al., 1991) e no Brasil (FANTIN, 1994), foi relatada como *Phaeosphaeria maydis*. Em seguida, os episódios da doença foram relatados em países das Américas do Sul, Central e do Norte, África e Ásia, demonstrando que a doença está largamente disseminada por diversos países (CARSON, 2001).

Considerando as doenças que atacam a cultura do milho no Brasil, a mancha branca é uma das mais importantes (CAPUCHO et al., 2010; KRAWCZYK et al., 2010), tendo extensa distribuição pelo território brasileiro. Devido a sua larga disseminação no país e pelos intensos danos causados aos híbridos mais suscetíveis, é considerada a principal doença do milho (SILVA, 2002), podendo causar danos da ordem de 60% em ambientes favoráveis e com o plantio de híbridos suscetível (GRIGOLLI e LOURENÇÃO, 2013).

Etiologia

Estudos permitiram comprovar que o estágio picnidial correspondia ao gênero *Phyllosticta* e o postulado de Koch foi provado para este fungo. Desde então, *P. maydis* foi assumido como sendo o agente causal da doença no Brasil, que foi identificada visualmente através da aparência das lesões expostas nas plantas das lavouras de milho (FIDELIS et al., 2007).

Com o decorrer do tempo, os resultados de pesquisa questionaram a etiologia da mancha de *Phaeosphaeria*, em razão da frequência de *P. maydis* (10%) ser muito baixa e seu anamorfo *Phylosticta* spp. ter uma detecção (7%) nas lesões de mancha foliar de *Phaeosphaeria* e também a ausência do fungo em muitas regiões de cultivo de milho (CERVELATTI et al., 2002).

No Brasil, o agente etiológico da mancha branca do milho é um assunto controverso devido à problemática em torno da reprodução dos sintomas da doença em inoculações com esporos de *P. maydis* (COSTA et al., 2012). Nas várias tentativas para se cumprir o postulado de Koch houve falhas determinantes (BOMFETI et al., 2008).

A bactéria *Pantoea ananatis*, no princípio do ano de 2000, também foi relatada como o agente etiológico da mancha foliar de *Phaeosphaeria* do milho no Brasil. Este patógeno é uma bactéria Gram-negativa, não esporulante, anaeróbia facultativa, colônia com crescimento mucóide produzindo uma cor amarela brilhante em meio de cultura YDC (SCHAAD et al., 2001), anteriormente conhecida como *Erwinia herbicola* (syn. *Erwinia uredovora*) (MERGAERT et al., 1993). Algumas estirpes de *P. ananatis* exibem fenótipo-nucleação de

gelo (LINDOW, 1983; WATANABE e ARAI, 1987).

Foi estabelecido um novo nome para esta doença, mancha branca do milho (PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001, 2002). Em seguida, novas pesquisas forneceram evidências científicas e reforçaram o papel do *P. ananatis* como agente da doença mancha branca do milho (POMINI et al., 2007; PÉREZ-Y-TERRÓN et al., 2009; ALIPPI e LÓPEZ, 2010; KRAWCZYK et al., 2010; LANA et al., 2012). A virulência de *P. ananatis* foi certificada por quatorze espécies de plantas, demonstrando o mesmo padrão de lesões encharcadas, semelhante aos sintomas da própria mancha associada com grandes prejuízos financeiros em muitos cultivos agrícolas e em várias espécies de essências florestais em todos os continentes (FIGUEIREDO e PACCOLA MEIRELLES, 2012).

Paccola-Meirelles et al. (2001) isolaram *P. ananatis* de lesões no estágio inicial de mancha branca, numa frequência de 63%. A bactéria isolada apresentou os mesmos sintomas das doenças nas lavouras, quando inoculada nas plantas de milho em casa de vegetação. Depois da inoculação nas plantas de milho, *P. ananatis* foi reisolada, a partir das lesões, concluindo os postulados de Koch. Bomfeti et al. (2007) utilizaram o fungicida Benomyl com efeito fungistático para controle de fungos e este produto não impediu o desenvolvimento de *P. ananatis* em laboratório. Desta forma, entende-se que as lesões foliares produzidas no campo foram originadas por esta bactéria. Os fungos que deveriam estar presentes nas lesões foram contidos pelo fungicida e não surgiu a formação de estruturas de reprodução.

As lesões que ocorrem nas folhas das plantas de milho causadas pela bactéria *P. ananatis* são favorecidas pela temperatura noturna acima de 14 °C e umidade relativa do ar de 60% (FERNANDES e OLIVEIRA, 1999). Rolim et al. (2007) constataram que o acúmulo de temperatura de 2900 °C e a precipitação de 350 mm, contados desde o plantio, beneficia, para todos os grupos de resistência à doença, o desenvolvimento da mancha branca sendo considerado variedades suscetíveis, moderadamente resistente e resistente.

Sintomas

Os sintomas da doença têm seu início nas folhas por meio do surgimento de manchas cloróticas aquosas do tipo anasarca, as quais se tornam necróticas de coloração palha (Figura 1). No interior das lesões necróticas, é possível serem visualizadas estruturas de reprodução do fungo, os pseudotécios e picnídios, segundo Fantim (1994); ou peritécios e picnídios; segundo Pinto et al. e Fernandes e Oliveira (1999). De acordo com o genótipo do milho, é possível que as lesões se apresentem com distintas severidades (PACCOLA-MEIRELLES et al., 2002).

Com muita frequência, os sintomas surgem inicialmente nas folhas inferiores. Muito rapidamente avançam para as demais folhas intermediárias e para o ápice da planta (FERNANDES e OLIVEIRA, 1999; PEGORARO et al., 2002). Com alta precipitação e temperaturas amenas, condições climáticas favoráveis, sintomas da doença podem ser observados também na palha das espigas, seca prematura das folhas, diminuição no ciclo da planta e redução de tamanho e peso dos grãos (OLIVEIRA et al., 2004). Folhas com 10 a 20% de severidade da doença demonstram diminuição na taxa fotossintética líquida em torno de 40% em cultivares suscetíveis, reduzindo a produção de grãos em até 60 % (GODOY et al., 2001). Pesquisas de caracterização isoenzimática e por RAPD, feitas por Cervelatti et al. (2002) em isolados de fungos provenientes de picnídios e pseudotécios, mostraram que estas estruturas reprodutivas pertencem a espécies de fungos distintos e não aos estados anamórficos e teleomórficos de um mesmo agente causal.



Figura 1. Mancha branca em milho. (Fonte: o autor).

Controle

O emprego de plantas resistentes é a mais importante medida de controle da doença. Os trabalhos para adquirir informações genéticas no que se refere à resistência a mancha branca do milho são recentes. A característica é apresentada como quantitativa, sendo a ação gênica aditiva de maior importância na herança do caráter quando comparada à dominante (CARSON, 2001; PEGORARO et al., 2002). A resistência à mancha branca tem sido relatada ainda como caráter que apresenta alta herdabilidade (CARSON, 2001; PEGORARO et al., 2002).

As medidas de rotação de culturas e plantio escalonado são recomendadas e satisfatórias, porém, com o aumento de áreas cultivadas, a utilização de variedades suscetíveis

em condições climáticas favoráveis, manejo incorreto de irrigação juntamente com plantio consecutivo de milho com alto potencial de inóculo se torna possível o surgimento de epidemias com indispensável utilização de defensivos agrícolas (ROLIM et al., 2007). Os agricultores, devido à preocupação com essa doença têm utilizado, com frequência, fungicidas para seu controle, mesmo quando apresenta baixa severidade (FANTIN et al., 2004). De acordo com Pereira et al. (2005), esta doença teve controle satisfatório com a utilização de fungicidas dos grupos químicos das estrobilurinas e ditiocarbamatos. Por outro lado, Juliatti et al. (2004) constataram a ineficácia dos fungicidas triazóis no manejo da mancha branca. Segundo Manerba et al. (2013), a aplicação mecanizada de fungicidas deve ser operacionalizada até o estádio vegetativo (V8 – oito folhas desenvolvidas). A pulverização de algumas áreas ocorre no estágio V8, mas principalmente até o pendoamento.

2.2.2 Mancha ocular

A cultura do milho é acometida por várias doenças e em 1982-1983, no Sul do Brasil, foi registrada a mancha ocular produzida pelo fungo *Kabatiella zeae* Narita e Hiratsuka [Sin.= *Aureobasidium zeae* (Narita e Hiratsuka) Dingley]. Para as plantações de milho no Brasil é crescente a gravidade dessa doença, no entanto, esse patossistema é pouco conhecido entre os agricultores (CAMOCHENA et al., 2008). Devido ao surgimento de epidemia e alta severidade, a partir da safra 2004/2005, em diversos cultivares de milho no sudoeste do Paraná e Santa Catarina, a mancha ocular, causada por *Kabatiella zeae* (Narita e Hiratsuka) Dingley, vem tomando relevância (CAMOCHENA; SANTOS e MALAGI, 2007).

Etiologia

Esta doença foi relatada, primeiramente, no Japão, por Narita e Hiratsukaem 1959 (NARITA e HIRATSUKA, 1959) e, a partir daí, disseminou por todos os continentes (CHIANG e HUDSON, 1990). No Brasil, essa doença foi descrita inicialmente em 1982/1983 em Dourados-MS, por pesquisadores que avaliaram a severidade de doenças foliares de milho (ESTEVES, 1984). Inicialmente, a doença foi reconhecida apenas por sintomas visuais sem testes de patogenicidade para certificação. A sua presença foi confirmada na safra de 2004/2005, no Paraná e Santa Catarina, vinte anos mais tarde (SANTOS, CAMOCHENA e MALAGI, 2007). O estudo das particularidades morfológicas das colônias micélio e conídios é fundamental para permitir o conhecimento do patógeno com suas qualidades fisiológicas. Também é importante conhecer a composição dos meios de cultura apropriados para o

crescimento micelial e esporulação (BOGO et al., 2008).

Kabatiella zeae Narita e Y. Hiratsuka [Sin.= Aureobasidium zeae (Narita e Hiratsuka) Dingley] foi comparado com outras sete espécies de Kabatiella sp., e diferenciado principalmente de acordo com as dimensões de conídios e planta hospedeira. K. Zeae foi considerado morfologicamente semelhante a K. caulivora (Kirchn.) Karak. Contudo, os conídios de K. zeae se mostraram mais longos e mais estreitos. Amy et al. (1971) evidenciaram que o tamanho dos conídios e as proporções de comprimento e largura, variaram com o substrato de ágar. Para compreender a morfologia conidiana, principalmente o tamanho, na separação de espécies dentro dos gêneros dos fungos imperfeitos, requer uma compreensão da variação normal associada a cada espécie.

O fungo *K. zeae* pertence à categoria das leveduras negras, pois Arny et al. (1971), nos Estados Unidos, relatando algumas características do fungo *K. zeae*, ressaltaram que as colônias, no início do crescimento, apresentavam cor amarela ou rosa escuro, mudando para azul escuras ou negras. Os pesquisadores observaram que o patógeno apresenta esporos curvos ou falcados com terminais pontiagudos e aceptados, medindo 18 a 33 x 3 a 4 μm. Camochena et al. (2010), utilizando 35 isolados de *Kabatiella zeae*, pesquisaram as características morfológicas e o crescimento micelial do patógeno nos meios de cultura BSA (batata, sacarose e ágar), MA (malte e ágar), AV (aveia e ágar) e FA (farinha de milho e ágar) e constataram que todos os isolados apresentaram variabilidade em relação aos meios de cultura. A medida dos conídios variou de 3-4 x 27-33 μm, de largura e comprimento, respectivamente. Os autores também observaram que 80% dos isolados apresentaram coloração rosa clara e aspecto coriáceo e enrugado. O maior crescimento micelial foi observado no meio BSA.

Os pesquisadores Reifschneider e Arny (1983) observaram em vários isolados a variabilidade cultural e morfológica de *K. zeae* e deduziram que não houve diferenças significativas para a medida de largura dos conídios analisados, com média de 2,5 micrômetros (µm). O crescimento micelial variou entre 1,1 e 4,4 mm/dia e a temperatura ótima para o crescimento de 60% dos isolados foi de 24°C. Todas as colônias demonstraram aspecto coriáceo e foi classificada em dois tipos básicos: coloração clara (18%) e escura (82%).

Sintomas

Os sintomas têm aspecto idêntico a um olho. São lesões encharcadas e translúcidas, circulares a ovais (1-4mm de diâmetro), com um halo amarelado, que adquirem coloração parda a creme no centro (Figura 2). As manchas podem coalescer, constituindo uma área

necrótica maior, sendo capaz de produzir uma seca antecipada das folhas (REIS e CASA, 2004a; SANTOS et al., 2007).

As lesões demonstram aspecto translúcido e encharcado quando as folhas são observadas contra a luz. A doença inicia seu ciclo com manchas ocasionais, que aumentam, atingindo totalmente a superfície da folha e casualmente a palha da espiga. Em condições climáticas favoráveis, clima úmido e ameno, as partes afetadas, folhas, espigas e colmos, tornam-se amarelados e secam precocemente (SANTOS e MALAGI, 2007).



Figura 2. Mancha Ocular do milho. (Fonte: o autor)

Controle

O plantio direto, onde restos culturais continuam na superfície do solo aumentando a fonte de inóculo, juntamente com a grande quantidade de cultivares comerciais disponibilizadas para o mercado, muito produtivas, porém com diversos níveis de resistência aos patógenos, tem permitido que as doenças, de uma forma geral, aumentem sua fonte de inóculo e, portanto, sua intensidade (JULIATTI et al., 2007).

Apesar da existência de vários métodos que auxiliam no manejo das doenças foliares do milho (rotação de culturas, plantio antecipado e aplicação de fungicidas), a utilização de cultivares resistentes é o mais eficiente e econômico. Todavia, desenvolver cultivares é um trabalho mais dispendioso que o controle químico, envolvendo desde a seleção de genitores resistentes, o desenvolvimento do controle genético, até a elaboração e execução de estratégias eficientes na transferência dos genes de resistência para as linhagens de milho melhoradas, que fazem parte dos híbridos comerciais (SCHUELTER et al., 2003).

2.2.3 Cercospora

A cercosporiose foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1934, no estado de São Paulo, em Campinas. No entanto, somente a partir de 1998 começaram a ocorrer epidemias relevantes nas regiões produtoras do país, impressionando agricultores, fitopatologistas e melhoristas (PEREIRA, 2005). Em 2002, as epidemias de cercosporiose tomaram dimensões preocupantes em muitas localidades do país (JULIATTI et al., 2004). Vários híbridos comerciais de milho suscetíveis, embora seu grande potencial produtivo, foram substituídos pois a perda na produtividade de grão atingiu até 40% (BRITO et al., 2007). Atualmente, é avaliada como uma das mais importantes doenças foliares da lavoura de milho do nosso país, encontrada em todas as regiões da cultura do milho, devido tanto a sua larga ocupação como também pelos seus prejuízos provocados (BRITO et al., 2008).

Etiologia

Os agentes etiológicos causadores dessa doença são o fungo anamorfo *Cercospora zeae-maydis* Tehon & Daniels e o fungo *Cercospora sorghi* f. sp. *maydis* Ellise Everh, sendo sua fase telemorfa o ascomiceto *Mycosphaerella*, mas esta fase não acontece em lesões (PEREIRA et al., 2005). As duas espécies de *Cercospora* têm sido relatadas nas regiões produtoras de milho em todo o país (FANTIN et al., 2001), no entanto, *C. sorghi* por ser um patógeno pouco virulento na ocupação dos tecidos foliares, causa sintomas menos agressivos (LATTERELL e ROSSI, 1983; WARD et al., 1999). White (2000) e Crous et al. (2006) relatam que esta doença pode ser provocada por três espécies de *Cercospora: C. zeae-maydis, C. zeina* Crous & U. Braun e também *C. sorghi*.

Neves et al. (2015) encontraram três espécies de *Cercospora* associadas à mancha de cercospora em duas regiões de produção de milho do Brasil, estado do Paraná e estado de Goiás, que detêm aproximadamente 70% de milho produzido no país. Entre eles, *C. zeina* foi predominante sobre *C. zeae-maydis* e *C. sorghi* var. *maydis*, sendo que *C. zeina* ocorre em 91% e 97% dos locais de GO e PR, respectivamente.

Os conídios de *C. zeae-maydis* são mais curtos e largos (4-9 µm de largura por 40-165 µm de comprimento), quando comparados a *C. sorghi* f. sp. *maydis* (3-4,5 µm de largura e 40-120 µm de comprimento) e *C. zeina* (5-7 µm de largura e 40-100 µm de comprimento). Além do tamanho dos conídios, os conidióforos da primeira espécie ocorrem agregados em fascículos, formando esporodóquios, ao passo que, na segunda, os conidióforos são isolados (PEREIRA et al., 2005).

As pesquisas filogenéticas demonstraram a existência de dois grupos genéticos do patógeno, grupos I e II, em isolados de cercospora coletados em lavouras de cultivo de milho nas regiões centro e sul do Brasil. Estes grupos apresentam grande semelhança genética entre si, sempre maior que 90%, possivelmente devido à baixa capacidade de recombinação ou mutação desses isolados (BRITO et al., 2007).

No que se refere ao clima, a evolução da cercosporiose requer umidade relativa do ar acima de 95%, causado por períodos extensos de chuvas, ocorrência freqüente de neblina e orvalho, dias nublados, vinculados a temperaturas amenas a altas, entre 22 e 30 °C. (WHITE, 2000).

Sintomas

As lesões provocadas por *C. zeae-maydis*, de acordo com Crous et al. (2006), são oblongas, produzindo extensas faixas irregulares, de coloração cinza claro a marron palha, com bordos marrons, de formato e tamanho diversos (Figura 3). Por esta característica, esta mancha é conhecida como Gray leaf spot ou como mancha foliar cinzenta. As lesões de *C. zeina* são muito uniformes, confinadas entre as nervuras com 2-3 mm de largura, e o comprimento pode variar de 5-40 mm, com bordos indistintos e cloróticos em lesões jovens. Todo o conjunto dessas características apenas podem ser notadas sob condições controladas. Nas condições de campo, geralmente, os primeiros sintomas são observados na fase de floração e nas primeiras folhas das plantas (WARD et al., 1999), onde o fungo se instala no limbo foliar, podendo produzir extensas áreas necróticas (LATTERELL e ROSSI, 1983).

Manchas menores e menos retangulares, sintomas mais atenuados, normalmente, acompanhadas por bordos cloróticos ou avermelhados, podem ser apresentados em alguns híbridos menos suscetíveis (FREPPON et al., 1994). A disseminação dessa doença ocorre principalmente pelo vento e respingos de chuva, levando os esporos presentes nos restos de cultura, que são a principal fonte de inóculo local de áreas adjacentes (CASELA et al., 2006).



Figura 3. Cercospora em milho. (Fonte: o autor).

Controle

O controle genético da cercosporiose e demais doenças foliares do milho tem sido mais eficiente quando ocorre resistência horizontal. Neste caso, envolve ação de muitos genes no processo fisiológico de defesa da planta e assim age na maioria dos indivíduos da população de patógenos. A eficácia da resistência horizontal está em sua presumida maior estabilidade por atuar igualmente contra todas as raças de indivíduos de um patógeno e em sua maior persistência por estar menos exposta a flutuações na população do patógeno (PINHO et al., 2001).

O uso de fungicidas nas lavouras de milho tem sido fundamentado principalmente em áreas onde não se pratica a rotação de culturas, em locais onde ocorre clima favorável ao cultivo deste cereal, com cultivo intensivo de até cinco safras a cada dois anos, o que propicia o incremento de inóculo e, consequentemente, da cercosporiose (WHITE, 2000; CROUS et al., 2006). Alguns autores têm demonstrado a eficácia de fungicidas dos grupos químicos triazóis mais estrobilurinas no cultivo do milho, com avaliações demonstrando a redução na severidade da doença (JULIATTI et al., 2004; BRITO et al., 2007).

A deficiência de informações para o diagnóstico da severidade e as consequências da doença é o fator limitante mais importante para determinar o momento da aplicação do fungicida. As técnicas para tomada de decisão devem ser trabalhadas para determinar o tempo ideal de aplicação (MUNKVOLD et al., 2001). As orientações atuais para aplicação de fungicidas incluem: suscetibilidade do híbrido, manejo da cultura, histórico da área e limiar da doença como fatores qualitativos (BHATIA e MUNKVOLD, 2002).

2.2.4 Helmintosporiose

A helmintosporiose desenvolve-se praticamente em todas as lavouras de milho do mundo (MIRANDA et al., 2002). Segundo Reis et al. (2004), a doença que mais ocorre em nosso país é a helmintosporiose. Nas lavouras conduzidas no período da segunda safra tem surgido maiores danos de helmintosporiose, de tal forma que os prejuízos têm atingido 50% no rendimento (CASELA el al., 2006).

Etiologia

A helmintosporiose é causada pelo fungo *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard e E. G. Suggs (fase teleomorfica) e, como fase anamórfica, *Setosphaeria turcica* (Luttrell) K.

J. Leonard e E. G. Suggs. O patógeno, um ascomiceto, produz conídios de coloração verdeoliva ou marrom-escura, fusiformes e ligeiramente curvos, com 3 a 8 septos, medindo de 20 x 105 μm, com hilo basal saliente e germinação através de tubo germinativo polar. Os conidióforos são oliváceos, com 2 a 4 septos, medindo de 7-9 x 150-250 μm. A ocorrência da fase sexual é rara na natureza, apesar de poder ser produzida em condições controladas, com a produção de peritécios globosos e escuros. As ascas são cilíndricas, contendo de 1 a 8 ascósporos com três septos, hialinos, retos ou ligeiramente curvos e dimensões de 13-17 x 42-78μm (FREDERIKSEN e ODVODY, 2000).

Sintomas

Os sintomas peculiares são lesões alongadas, elípticas, de coloração cinza ou marrom e comprimento variável entre 2,5 a 15 cm, de acordo com Reis et al. (2004b) (Figura 4). No início as primeiras lesões surgem nas folhas inferiores da planta e o patógeno também sobrevive nos restos culturais, em folhas e colmos infectados. A propagação ocorre pela disseminação de conídios por respingos de chuva bem como através do vento a longas distâncias. A lavoura de milho pode sofrer acamamento nas condições de infecção mais severas da doença. Essa doença é saprofítica e, desta forma, os restos de cultura são fontes de inóculo para as lavouras seguintes. A ocorrência de temperaturas amenas, entre 18 e 27 °C, e a presença de orvalho constante são propícias ao progresso da doença. Este patógeno tem como hospedeiros o sorgo (*Sorghum bicolor*), o capim Sudão (*Sorghum sudanense*), o sorgo de halepo (*Sorghum halepense*) e o teosinto (*Zea mexicana*). Esse patossistema é um dos mais importantes para o sorgo em diversas partes do mundo e provoca importantes perdas também em milho (HARLAPUR et al., 2008).



Figura 4. Helminthosporiose em milho. (Fonte: o autor).

Controle

Para o manejo dessa doença, é imprescindível a utilização de híbridos resistentes, rotação de culturas e sincronia das épocas de semeadura do milho na região (FANTIN et al., 2006). O uso de fungicidas tem se mostrado uma estratégia viável e eficiente de manejo, no entanto, alguns fatores devem ser observados: o histórico de ocorrência da doença na região, a suscetibilidade dos híbridos plantados, as condições de ambientais, o sistema de produção e a disponibilidade de equipamentos para pulverização. A aplicação é recomendada nas situações de elevada severidade da doença, nas condições de genótipos suscetíveis, clima favorável e plantio continuado de milho na área (BLANDINO et al., 2012).

Segundo Fantim e Duarte (2009), o emprego de formulações contendo estrobilurinas e triazóis tem se mostrado mais eficiente para o controle das doenças foliares do milho do que aplicações com ingredientes ativos isolados e, além disso, estas formulações apresentam também a vantagem de oferecer menor risco de perda de eficiência pela indução de resistência dos patógenos.

2.2.5 Ferrugem comum

A ferrugem comum (*Puccinia sorghi*) é a mais antiga e a mais pesquisada de todas as doenças que ocorrem nas lavouras do milho no Brasil. Está largamente difundida em todas as localidades onde se cultiva o milho, com ocorrência mais severa particularmente em altitudes entre 800 e 1500 metros (FERNANDES e OLIVEIRA, 2000). A ferrugem comum, provocada pelo fungo *P. sorghi*, é conceituada como a mais destrutiva das ferrugens que atacam a cultura do milho, gerando prejuízos de 0,6% da produtividade para cada 1% de área foliar atacada (SILVA e SCHIPANSKI, 2007).

Etiologia

A ferrugem comum é provocada pelo patógeno P. sorghi, pertencente à divisão

Basidiomycota, classe *Teliomycetes*, ordem Uredinales, família Pucciniaceae. De acordo com Reis, Casa e Bresolin (2004), os fungos pertencentes à ordem Uredinales são parasitas obrigatórios, além de demonstrar grande estágio de especialização com relação ao hospedeiro, com casos de surgimento de *formas speciales* ou raças fisiológicas. A infecção acontece por meio da introdução das estruturas do fungo pelos estômatos do limbo foliar, colmo e bainhas da espiga. Ocasionalmente, ocorrem pontos cloróticos provenientes da infecção em apenas 24 horas quando as condições climáticas forem favoráveis (PATAKY, 1999). O crescimento do patógeno é beneficiado por temperaturas amenas, da ordem de 16 a 23 °C, umidade relativa do ar alta e altitudes acima de 900 m, sendo esta amplitude ótima para a germinação dos urediósporos (PINTO et al., 2006).

Sintomas

Os sintomas da ferrugem comum desenvolvem-se como pústulas amarelas, surgindo particularmente em grupos pequenos, paralelamente às nervuras medindo em torno de 0,3 - 1,0 mm de comprimento, Surgem em ambas as superfícies foliares e são cobertas pela epiderme, com resalva para um pequeno poro ou fenda no centro da lesão (Figura 5). Essas pústulas crescem e, em seguida, sofrem uma mudança na coloração, tornandos-se púrpura escuro, circular ou oblongo. Os teliósporos enegrecidos com o centro de coloração creme, ocacionalmente, se espalham em grupos ao redor da urédia (REIS et al., 2004).

A doença é beneficiada por calor e clima úmido e glebas em regiões de baixas altitudes (REIS et al., 2004). Os inóculos primário e secundário consistem de uredósporos provenientes de plantas de milho ou teosinto e a sua dispersão é proporcionada especialmente pelo vento (CASELA et al., 2003). Silva e Schipanski (2007) relatam que a disseminação da ferrugem comum acontece tanto em longas quanto em curtas distância através da água, vento, insetos e outros agentes disseminadores, sendo o vento o principal e mais significativo agente disseminador do fungo, espalhando os esporos internamente às plantas e também a extensas distâncias, distribuindo eficientemente o inóculo em amplas áreas do relevo, até mesmo entre continentes.



Figura 5. Ferrugem comum do milho. (Fonte: o autor).

Controle

O plantio dos híbridos de milho em períodos nos quais a doença tem menor progresso bem como o emprego de cultivares resistentes são as medidas mais importantes de controle da ferrugem comum (REIS e FORCELINI, 2007). Para o manejo da ferrugem comum, a resistência genética apresenta-se como a prática mais eficaz. No entanto, os cultivares que demonstram resistência à ferrugem comum nem sempre têm a preferência do mercado e dos agricultores, pois fazem a opção por variedades excessivamente mais produtivas, não obstante serem altamente suscetíveis (SHAD e DILLARD, 2006).

A utilização de variedades resistentes foi a única maneira de controle das doenças de milho desde o princípio da década de 1990. O aumento de produtividade da lavoura de milho é limitado pelo crescente crescimento das doenças foliares. O crescimento da importância das doenças da lavoura de milho e consequente utilização de fungicidas para seu manejo é incrementado pelas condições de clima favorável ao progresso de epidemias, pelo emprego inadequado de alta tecnologia, como também pela prática de semeaduras consecutivas e a utilização indiscriminada de variedades suscetíveis (JULIATTI et al., 2004).

2.3 Controle alternativo de doenças de plantas

O controle alternativo pode ser descrito como conjunto de práticas agrícolas para o

controle de pragas e doenças como o uso de preparados, tais como os biofertilizantes, caldas e extratos de plantas, entre outros, a partir de substâncias não prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente. Estas formulações são essencialmente atóxicas ao homem e à natureza, eficientes no combate aos artrópodes e microrganismos nocivos não favorecendo a ocorrência de organismos resistentes, com boa disponibilidade e custo reduzido (FERNANDES, et al., 2006).

A compreensão de agricultura sustentável envolve o manejo adequado dos recursos naturais, evitando a degradação do ambiente e, desta forma, altera as prioridades dos sistemas convencionais de agricultura com relação à utilização da energia, além de mudar a visão sobre o equilíbrio entre a produção de alimentos e os impactos no ambiente. Esta conversão implica na redução de dependência por insumos da indústria química e no maior uso de processos biológicos nos sistemas agrícolas (BETTIOL e GHINI, 2003).

O objetivo mais importante dos métodos alternativos na agricultura não é o aproveitamento temporário e passageiro, mas sim a utilização econômica em longo prazo, mantendo o agroecossistema estável e autossustentável. Os métodos alternativos são modernos, formulados em aprimorado e complexo sistema de técnicas agronômicas (SOUZA e REZENDE, 2003).

A Seção 1 do Diário Oficial da República Federativa do Brasil, de 19 de maio de 1999, normatiza o uso das chamadas "práticas alternativas", empregadas na obtenção de produtos agropecuárias certificados como orgânicos e que foram obtidos livres de agrotóxicos. Os produtos alternativos não têm ação antimicrobiana direta, em consequência devem ser empregados em programas integrados de controle (JUNQUEIRA, 2010). Töfoli e Domingues (2005) certificaram que o emprego de indutores de resistência, somado à utilização de fungicidas, favorece imensamente o manejo das doenças.

O fosfito de potássio de igual forma vem sendo empregado no manejo de doenças nas lavouras, com recomendações para, entre outros, o controle de doenças provocadas por oomicetos, como *Pythium* e *Phytophthora* e outros patógenos, causadores de podridões de colo e raiz (JUNQUEIRA, 2010).

Os biofertilizantes contêm microrganismos que decompõem a matéria orgânica e produzem gases e metabólitos (hormônios e antibióticos). Sendo assim, a liberação de diferentes substâncias é proporcional à atividade e diversificação da composição dos biofertilizantes. Ainda mais, o produto atua com considerável efeito nutricional, com macro e micronutrientes. Tudo isso possibilita a ação conjunta de diversos mecanismos, que podem ter efeito no controle de doenças (BETTIOL e GHINI, 2001). Na procura de insumos mais

naturais que não agridem o ambiente, os produtos alternativos, como biofertilizantes, vem crescendo em todo o país.

As plantas medicinais, devido à sua composição química diversificada, tornam-se origens potenciais de moléculas que podem ser empregadas na defesa de plantas contra fitopatógenos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008). O uso de vegetais em proteção de plantas, quando comparado aos produtos sintéticos, tem muitos benefícios: têm a possibilidade de gerar novos compostos, os quais os patógenos não se tornaram capazes de inativar; são menos tóxicos; são degradados em pouco tempo pelo ambiente; detêm um largo modo de ação e são provenientes de recursos renováveis (FERRAZ, 2008).

As plantas medicinais são capazes de elaborar substâncias biologicamente ativas, que interferem de alguma forma na mudança metabólica de um organismo específico. Pesquisas conduzidas com extrato bruto ou óleo essencial, obtidos de plantas medicinais, têm indicado as possibilidades de uso das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta quanto por alterações fisiológicas na planta, como indução de enzimas pertinentes à patogênese e fitoalexinas, lignificação da folha, entre outras (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005). Fiori et al. (2000), utilizando o óleo essencial de *Cymbopogon citratus, Eucalyptus citriodora, Ageratum conizoides* e *Achillea millefolium* constataram que todos os extratos foram eficazes em impedir o crescimento micelial, esporulação e germinação de *Didymella bryoniae*.

Itako et al. (2009) pesquisaram a fungitoxidade *in vitro* dos extratos brutos aquosos (EBAs) de *A. millefolium, Artemisia camphorata, C. citratus* e *Rosmarinus officinalis* contra *Cladosporium fulvum* e o efeito protetor destes extratos para a cladosporiose em plantas de tomateiro em casa-de-vegetação. Verificaram que os EBAs inibiram o crescimento micelial e apresentaram efeitos significativos na redução da esporulação e da germinação de esporos e *in vivo*, redução no número de lesões e possível indução resistência. Santos Neto et al. (2016) utilizaram EBA, óleo essencial de *C. citratus* e citral, para controle de S*eptoria lycopersici* na cultura do tomateiro a campo. Verificaram efeito fungitóxico direto e concluíram que estes subprodutos de *C. citratus* demonstram potencial para utilização no manejo fitossanitário da cultura em sistema de produção orgânica.

2.4 Biofertilizantes no controle de doenças de plantas

A palavra "biofertilizante" é formada pelos elementos de composição "bio" (do grego), que significa "vida", e "fertilizante" (adjetivo de dois gêneros e substantivo

masculino), que significa "que ou o que fertiliza", portanto, é adubo, uma substância ou aquilo que promove a nutrição nas plantas ou acrescenta nutrientes ao solo. Trata-se de um adubo vivo ou que traz em si a vida. Originalmente é utilizado para designar produto resultante da biodigestão de resíduos orgânicos em meio líquido, da criação de animais ou subprodutos da agroindústria, podendo ser utilizado para a fertilização do solo e também no controle de pragas nas plantas. Segundo Bettiol (2003), o biofertilizante é produzido pela digestão anaeróbica ou aeróbica de material orgânico e vegetal em meio líquido, podendo ser ou não acrescentado micronutrientes e outros componentes. O produto final dessa fermentação pode ser usado tanto como fertilizante quanto no controle de fitopatógenos e pragas nas plantas.

O biofertilizante é, basicamente, um meio onde ocorre crescimento de bactérias benéficas que podem inibir o desenvolvimento de fungos e fitobactérias que causam doenças nas plantas, também aumentando a resistência contra insetos e ácaros (MESQUITA et al., 2007). Estes biofertilizantes são definidos, na Instrução Normativa nº 46 de 06, de outubro de 2011, como produtos que contêm componentes ativos ou agentes biológicos capazes de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou sobre partes das plantas cultivadas, melhorando o desempenho do sistema de produção, e que sejam isentos de substâncias proibidas pela regulamentação de orgânicos (MAPA, 2012).

Segundo Alves et al. (2009), a importância do uso de biofertilizantes líquidos na forma de fermentados microbianos simples ou enriquecidos está na quantidade de microrganismos, na diversidade dos nutrientes minerais e também na disponibilização de nutrientes e metabólitos pela atividade biológica, hormônios vegetais e antibióticos. Os produtos biofertilizantes podem ser produzidos pelos próprios agricultores em suas propriedades pois podem utilizar plantas cujos extratos brutos aquosos apresentam atividade no controle direto de doenças de plantas ou atuam na indução de mecanismos de defesa (MATIELLO e BONALDO, 2013; FRANCO et al., 2007). Com muita frequência, os biofertilizantes têm sido usados no controle de insetos, bactérias, fungos e actinomicetos (KUPPER et al., 2006), no entanto também têm sido usados com muita eficácia como condicionador físico do solo.

O biofertilizante, denominado Agrobio, obtido por meio da transformação microbiana em sistema aberto, é constituído de uma mistura de água, esterco bovino fresco, melaço, leite e sais minerais. Após cerca de 60 dias, dependendo das condições ambientais, o produto pode ser engarrafado para uso em lavouras, para controlar algumas doenças em mudas de hortaliças folhosas, de plantas ornamentais e de fruteiras em geral ou também como

fertilizante foliar (FERNANDES, 2000).

O biofertilizante, designado Supermagro, é proveniente da fermentação anaeróbica da matéria orgânica, composto por esterco, água, sais minerais (micronutrientes), melaço, leite entre outros, resultando em um efluente aquoso largamente empregado como adubo foliar, defensivo natural, podendo complementar a adubação orgânica do solo por fornecer micronutrientes essenciais ao metabolismo, crescimento e produção de plantas. Estes biofertilizantes têm sido amplamente utilizados no estado do Rio Grande do Sul, desenvolvido no município de Ipê, com a finalidade de utilização para as culturas da maçã, pêssego, uva, tomate, batata e hortaliças em geral.

Bettiol (2003) relata diversas maneiras para a produção de biofertilizantes, que são elaborados pela digestão anaeróbica ou aeróbica de material orgânico e vegetal em meio líquido, enriquecido ou não por micronutrientes e outros complementos. O produto fermentado pode ser empregado no controle de fitopatógenos ou como fertilizante. O componente químico do biofertilizante se define de acordo com a receita do material utilizado e o método de preparo, onde encontrar células vivas ou latentes de microrganismos de metabolismo aeróbico, anaeróbico e fermentação, bem como quelatos organominerais em solutos aquosos.

Para estabelecer a dosagem ideal e intervalo de aplicação dos biofertilizantes, bem como seu mecanismo de ação são necessários muitos estudos (KUPPER et al., 2006). Dois biofertilizantes, produzidos em condições aeróbicas e anaeróbicas, quando pulverizados em concentrações acima de 10% em plantas de citros, demonstraram possibilidade de controle de queda prematura dos frutos (KUPPER et al., 2009). Pesquisas produzidas por Faldoni (2011) evidenciaram que biofertilizantes à base de estrume bovino são eficientes no controle de *Phytophthora nicotianae* quando aplicados a 10% e 20%, e que tais compostos podem ativar genes relacionados à resistência sistêmica em plantas de citros.

No manejo de fitopatógenos, provavelmente está compreendido mecanismos de resistência induzida pelos microrganismos existente no biofertilizante (KUPPER et al., 2006), pois existe a possibilidade de os microrganismos acionarem os mecanismos de defesa das plantas a diversos patossistemas. A resistência induzida em plantas, ou do mesmo modo indução de proteção, imunidade adquirida ou ainda resistência sistêmica adquirida, compreende a ativação dos mecanismos latentes de resistência em uma planta através de tratamentos com agentes bióticos ou abióticos (BONALDO, 2005).

Deleito et al. (2005) apresentam a atividade de antibiose do biofertilizante Agrobio, porém, muito menos marcante que a do antibiótico sulfato de estreptomicina e do cobre, e

sugerem a possibilidade de se utilizar o Agrobio, após 35 dias de fermentação, como medida auxiliar no controle da mancha-bacteriana do pimentão. A certificação deste efeito por meio de ensaios epidemiológicos em condições de campo é indispensável, devido à complexidade do controle químico desta fitobacteriose (AGUIAR et al., 2003).

Rodrigues et al. (2016), pesquisando a mancha bacteriana do tomateiro, provocada por quatro espécies de *Xanthomonas*, avaliaram o efeito dos biofertilizantes no manejo da doença, no controle preventivo e curativo. Os biofertilizantes Soil-Set, Agro-Mos e Cop-R-Quick e água foram aplicadas nas plantas e inoculadas com a suspensão bacteriana. O controle preventivo foi mais eficaz no manejo da mancha bacteriana do tomateiro e os diferentes biofertilizantes reduziram a severidade da doença. Kupper et al. (2006; 2009) também constataram que o uso de biofertilizante foi eficiente no controle de *Phyllosticta citricarpa e Colletotrichum acutatum*, agentes causais da mancha preta dos citros e da queda prematura dos frutos cítricos, respectivamente.

O custo dos biofertilizantes está basicamente relacionado à mão de obra para preparo do próprio agricultor e à disponibilidade do material na propriedade, o que se torna uma vantagem para sua utilização (SANTOS e BETTIOL, 2003). A compra de insumos não é um fator determinante. Portanto, os biofertilizantes possibilita o aproveitamento do material disponível na propriedade, aumenta a eficiência dos micronutrientes aplicados, reduz o custo e, principalmente, acelera a recuperação do solo (PINHEIRO e BARRETO, 2005).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMILHO. Associação Brasileira dos Produtores de Milho. Disponível em: http://www.abramilho.org.br>. Acesso em: 17, fev., 2016.

AGUIAR, L.A.; KIMURA, O.; CASTILHO, A.M.C.; CASTILHO, K.S.C.; RIBEIRO, R.L. D.; AKIBA, F.; CARMO, M.G.F. Efeito de formulações cúpricas e cuprorgânicas na severidade da mancha-bacteriana e na população residente de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em pimentão. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n.1, p. 44-50, 2003.

ALIPPI, A.M., LÓPEZ A.C. First report of leaf spot disease of maize caused by *Pantoea* ananatis in Argentina. **Plant Disease**, v. 94, n. 01, p. 487-487, 2010.

ALVES, G.S.; SANTOS, D.; SILVA, J.A.; NASCIMENTO, J.A.M.N.; CAVALCANTE, L.F.; DANTAS, T.A.G. Estado nutricional do pimentão cultivado em solo tratado com diferentes tipos de biofertilizantes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, p. 661-665, 2009.

AMARAL, A.L.; Carli M. L.; Neto J. F. B.; Soglio F. K. *Phoma sorghina* a new pathogen associated with phaeosphaeria leaf spot on maize in Brazil. **Plant Pathology**, v. 53, p. 259, 2004.

ARAÚJO, J.B.S.; CARVALHO, G.J.; GUIMARÃES, R.J.; MORAIS, A.R.; CUNHA, R. L.Composto orgânico e biofertilizante supermagro na formação de cafeeiros. **Revista Coffee Sciencie**, v. 3, n. 02, p.115-121, 2008.

ARNY, D.C.; SMALLEY, E.B.; ULLSTRUP, A.J.; WORF, G.L.; AHRENS, R.W. Eyespot of mayze, a disease new to North America. **Phytopathology**, v. 6, n.1, p. 54-57, 1971.

BETTIOL, W. Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológico e outras alternativas. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (eds.) **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 191-215.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. (eds.). **Proteção de plantas na agricultura sustentável.** Recife, PE: Universidade Federal de Pernambuco, 2001. p. 1-15.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In:

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 80-96.

BEZERRA, L.L.; FILHO, J.H.S.; ANDRADE, R.; FERNANDES, D.; MADALENA, J.A.S. Avaliação da aplicação de biofertilizante na cultura do milho: crescimento e produção, **Revista Verde,** v. 3, n. 3, p, 131-139, 2008.

BHATIA, A.; MUNKVOLD, G.P. Relationship of environmental and cultural factors with severity of gray leaf spot in maize. **Plant Disease**, v. 86, n. 10, p.1127-1133, 2002.

BLANDINO, M.; GALEAZZI, M.; SAVOIA, W.; REYNERI, A. Timing of azoxystrobin + propiconazole application on maize to control northern corn leaf blight and maximize grain yield. **Field Crops Research**, v. 139, p. 20-29, 2012.

BOGO, A.; MAFFIOLETTI, M.A.; SANHUEZA, R.M.V.; CASA, R.T. Caracterização morfológica de isolados de *Cryptosporiopsis perennans* em diferente meios de cultura. **Tropical Plant Pathology**, 33:248-251. 2008.

BOMFETI, C.A.; SOUZA-PACOLLA, E.A.; MASSOLA JUNIOR, N.S.; MARRIEL, I.E.; MEIRELLES, W.F.; CASELA, C.R.; PACCOLA-MEIRELLES, L.D. Localization of *Pantoea ananatis* inside lesions of maize white spot diseases using transmission electron microscopy and molecular techniques. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p.63-66, 2007.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DIPIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos.** Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 11-28.

BORÉM, A.; GIÚDICE, M.P. Cultivares transgênicos. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. **Tecnologias de Produção do Milho**. Viçosa: UFV, 2004. 85p.

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

BRITO, A.H.; PINHO, R.G.V.; SOUZA FILHO, A.X.; ALTOÉ, T.F. Avaliação da severidade da Cercosporiose e rendimento de grãos em híbridos comerciais de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.7, p. 19-31, 2008.

BUCKLER, E.S.; STEVENS, N.M. Maize origins, domestication, and selection. Genetics and origins of crops, v. 4, p. 67-90, 2005.

CAMOCHENA, R.C.; SANTOS, I.; MALAGI, G. Avaliação da sensibilidade de genótipos de milho à mancha ocular, causada por *Kabatiella zeae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 225-229, 2007.

CAMOCHENA, R.C.; SANTOS, I.; MALAGI, G. Variabilidade de colônias de *Kabatiella zeae* em meios de cultura e morfologia de isolados do fungo. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 3, p. 190-196, 2010.

CAMOCHENA, R.C.; SANTOS, I.; MAZARO, M.S.; Escala diagramática para avaliação da severidade da Mancha Ocular em milho causada por *Kabatiella zeae* **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2124-2131, 2008.

CAPUCHO, A.S.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H.S.S.; PARREIRA, D.F.; FERREIRA, P.A.; LANZA, F.E.; COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; COTA, L.V. Influence of leaf position that corresponds to whole plant severity and diagrammatic scale for white spot of corn. **Crop Protection**, v. 29, p.1015-1020, 2010.

CARSON, M.L. Inheritance of resistance to Phaesphaeria leaf spot of maize. **Plant Disease**, v. 85, n. 7, p. 798-800, 2001.

CARSON, M.L.; GOODMAN, M.M.; GLAWE, D.A. Phaeosphaeria leaf spot of maize in Florida. **Plant Disease**, v. 75, p. 968-968, 1991.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, n. 31, v. 5, p. 427-439, 2006.

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S. A cercosporiose na cultura do milho. Brasília: Embrapa, 2003. 5p. (Circular Técnica, 24).

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S.; PINTO, N.F.J.A. Doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa, 2006. 3p. (Circular Técnica 83).

CERVELATTI, E.P.; PAIVA, E.; MEIRELLES, W.F.; CASELA, C.R.; FERNANDES, F.T.; TEIXEIRA, F.F.; PACCOLA-MEIRELLES, L.D. Characterization of fungal isolates from pycnidia and pseudothecia from lesions of Phaeosphaeria leaf spot in maize. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n.3, p.30-37, 2002.

CHIANG, M.S.; HUDSON, M. Inheritance of resistance to *Kabatiella zeae* eyespot of maize. **Phytoprotection**, v. 71, p.107-112, 1990.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos safra 2016/2017: décimo primeiro levantamento, agosto 2017. Brasília: CONAB, 2017. 162p.

COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; COTA, L.V. **Cultivo do milho**: doenças. Sistemas de produção 2. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), set. 2009. 165p.

COSTA, R.V.; COTA, L.V.; SILVA, D.D.; LANZA, F.E.; FIGUEIREDO, J.E.F. Eficiência de fungicidas para o controle da mancha branca do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 11, n. 3, p. 291-301, 2012.

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

DELEITO, C.S.R.; CARMO, M.G.F.; FERNANDES, M.C.A.; ABBOUD, A.C.S. Ação bacteriostática do biofertilizante Agrobio *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, p.281-284, 2005.

DUARTE, J.O.; CRUZ, J.C.; GARCIA, J.C.; MATTOSO, M.J. **Cultivo do milho**. Sete Lagoas, 2006 Disponível em: < http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/economia.htm> Acesso em: 21, set., 2016.

EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. 2006. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-produtos-processos-e-servicos/-/produto-servico/130/sistemas-de-producao-de-milho-e-sorgo-boas-praticas-agricolas. Acesso em: 23, setembro, 2016.

ESTEVES, A. Incidência de doenças, sob condições de campo, em cultivares de milho (*Zea mays*), em Dourados. **Fitopatologia Brasileira**, v. 9. p. 155-160,1984.

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

FANTIM, G.M. Mancha de *Phaeosphaeria*, doença do milho que vem aumentando sua importância. **Biológico**, v. 56, n. 1/2, p.39, 1990/1994.

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

FANTIN, G.M. Milho: tratar ou não das doenças? **Revista Cultivar Grandes Culturas**, v. 8, n. 88, p.28-31, ago. 2006.

FANTIN, G.M.; DUDIENAS, C.; CASTRO, J.L.; SAWAZAKI, E.; DUARTE, A.P. Avaliação da severidade das manchas de Phaeosphaeria e de Cercospora do milho em cultivo de segunda safra. **Revista de Agricultura**, v. 79, n. 1, p. 135-154, 2004.

FANTIN, G.M.; COUTINHO, A.S.V.A.; COLLETTI, M.P.B. Métodos de inoculação de *Phaeosphaeria maydis* em milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 371, 2001.

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. Milho manchado é milho sem produção. **Cultivar**, n. 12, p. 38-39, 1999.

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. Principais doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS 2000. 80p. (Circular Técnica, 26).

FERNANDES, M.C.A. **O biofertilizante Agrobio**. Informativo do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, n. 13. **A lavoura**, v. 103, n. 634, p.42-43, 2000.

FERNANDES, M.C.A.; LEITE, E.C.B.; MOREIRA, V.E. Defensivos alternativos: ferramenta para uma agricultura ecológica, não poluente, produtora de alimentos sadios. Niteroi: PESAGRO-RIO, 2006. 22p. (Informe Técnico, 34).

FERRAZ, S.; LOPES, E.A.; AMORA, D.X. Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: POLTRONIERI, L.S.; ISHIDA, A.K.N. (ed.). Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2008. 308p.

FIDELIS, R.R.; MIRANDA, G.V.; AFFÉRRI, F.S.; PELUZIO, J.M. Reação de cultivares de milho a *Phaeosphaeria maydis* sobre stresse de fósforo, no estado do Tocantins. **Ciência Desenvolvimento**, n. 2, p. 177-186, 2007.

FIGUEIREDO, J.E.F.; PACCOLA-MEIRELLES, L.D. Simple, rapid and accurate PCR-based detection of *Pantoea ananatis* in maize, sorghum and *Digitaria* sp. **Journal Plant Pathology**, n. 94, p. 663-66, 2012.

FIORI, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R., VIDA, J.B.; SCAPIM, C.A.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, S. . Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology,** n. 148, p. 483-487, 2000.

FORNASIERI FILHO, D. Manual da cultura do milho. Jabuticabal: Funep, 2007. 576p.

FRANCO, A.L.P.; Oliveira T.B.; FERRI, P.H.; BARA, M.T.F., PAULA, J.R. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratíssima* (Gillies e Hook) tronc. (alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (açafrão). **Revista Eletrônica de Farmácia**, n. 4, p. 208-220, 2007.

FREPPON, J.T.; LIPPS, P.E.; PRATT, R.C. Caracterizaction of the clorotic lesion response by maize to *Cercospora zeae-maydis*. **Plant Disease**, v. 78, p. 945-949, 1994.

GALINAT, W.C. The origin of maize: grain of humanity, **New York Botanical Garden Journal,** v. 44, n.1 p. 3-12, 1995.

GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 209-215, 2001.

GRIGOLLI, J.F.J.; LOURENÇÃO, A.L.F. Doenças do Milho Segunda safra. In: ROSCOE, R.; LOURENÇÃO, A.L.F.; GRIGOLLI, J.F.J.; MELOTTO, A.M.; PITOL, C.; MIRANDA, R. A.S. **Tecnologia e produção**: Milho Segunda safra e Culturas de Inverno. Curitiba: Midiograf, 2013. 172p.

HARLAPUR, S.I.; KULKARNI, M.S.; WALI, M.C.; SRIKANT, K.; YASHODA, H.; PATIL, B.C. Status of turcicum leaf blight of maize in Karnataka. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 21, p. 55-60, 2008.

HENNINGS, P.V. Fungi S. Paulenses II. Puttermans collect: **Hedwigia**, v. 41, p. 295-311, 1902.

ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TOLENTINO Jr., J.B.; CRUZ, M.E.S. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p.75-83, 2009.

JULIATTI, F.C.; APPELT, C.C.N.S.; BRITO, C.H.; GOMES, L.S.; BRANDÃO, A.M.; HAMAWAKI, O.T.; MELO, B. Controle da feosféria, ferrugem comum e cercosporiose pelo uso da resistência genética, fungicidas e épocas de aplicação na cultura do milho. **Bioscience Journal**, n. 20, p. 45-54, 2004.

JULIATTI, F.C.; BRANDÃO, A.M.; SANTOS, J.A.S.; LUZ, W.C. Fungicidas na parte aérea do milho: evolução de doenças fúngicas, perdas, resposta de híbridos e melhoria da qualidade da produção. In: LUZ, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 15, p. 277-334, 2007.

JULIATTI, F.C.; ZUZA, J.L.M.F.; SOUZA, P.P.; POLIZEL, A.C. Efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar da fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Biocience Journal,** Uberlândia, v. 23, 2, p. 34-41, 2007.

JUNQUEIRA, K.P. Resistência genética e métodos alternativos de controle da bacteriose do maracujazeiro causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Brasília, DF: UnB, 2010. 172p.

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: AMORIM, L.; RESENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A. (ed.). **Manual de fitopatologia.** Piracicaba: Agronômica Ceres, 2001. p. 307-323.

KRAWCZYK, K.; KAMASA, J.; ZWOLINSKA, A.; POSPIESZNY, H. First report of *Pantoea ananatis* associated with leaf spot disease of maize in Poland. **Journal of Plant Pathology**, n. 92, p. 807-811, 2010.

KUPPER, K.C.; BELLOTTE, J.A.M.; GOES, A. Controle alternativo de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da Queda Prematura dos Frutos Cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 1004-1015, 2009.

KUPPER, K.C.; BETTIOL, W.; GOES, A.; SOUZA, P.S.; BELLOTE, J.A.M., Biofertilizer for control of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **Crop Protection**, v. 25, p. 569-573, 2006.

LANA, U.G.P.; GOMES, E.A.; SILVA, D.D.; COSTA, R.V.; COTA, L.V.; PARREIRA, D.F.; SOUZA, I.R.P.; GUIMARÃES, C.T. Detection and molecular diversity of *Pantoea ananatis* associated with white spot disease in maize, sorghum and crabgrass in Brazil. **Journal of Phytopathology**, n. 160, p. 441-448, 2012.

LATTERELL, F.M.; ROSSI, A. Gray leaf spot of corn: a disease on the move. **Plant Disease**, v. 67, n. 8, p. 842-847, 1983.

LINDOW, S.E. The role of bacterial ice nucleation in frost injury to plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 21, p. 363-384, 1983.

MANERBA, F.C.; SOUZA, P.E.; PINHO, R.G.V.; DORNELAS, G.A.; MONTEIRO, F.P. Antibióticos no controle da mancha branca do milho. **Comunicata Scientitae**, v. 4, p. 361-367, 2013.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cadeia produtiva do milho / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura. Brasília : IICA : MAPA/SPA, 2007. Disponível em:http://www.agrolink.com.br/downloads/cadeia%20produtiva%20do%20milho.pdf. Acesso em: 16, setembro, 2016.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa MAPA nº 46 de 06/10/2011. **Estabelece o RegulamentoTécnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animale Vegetal**. 2012. Disponível em: <fiile:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Desktop/instrucao-normativa-n46.pdf>. Acesso em: 13, out., 2016.

MATIELLO, J.; BONALDO, S.M. Atividade elicitora de fitoalexinas em soja e sorgo por extratos e tinturas de espécies medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, n. 15, p. 41-550, 2013.

MATOS, M.J.L.F.; TAVARES, S.A.; SANTOS, F.F.; MELO, M.F.; LANA, M.M. Milho verde. 2006. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-geral/-/busca/Milho%20 verde?buscaPortal=Milho+verde> Acesso em: 21, jul., 2016.

MEDEIROS, M.B.; WANDERLEY, P.A.; WANDERLEY, M.J.A. Biofertilizantes líquidos. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento,** v. 31, n. 7, p. 38-44, jul/dez, 2003.

MESQUITA, E.F.; CAVALCANTE, L.F.; GONDIM, S.C.; CAVALCANTE, I.H.L.; ARAUJO, F.A.R.; BECKMANN-CAVALCANTE, M.Z. Produtividade e qualidade de frutos do mamoeiro em função de tipos e doses de Biofertilizantes. **Revista Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 589-596, 2007.

MIRANDA, G.V.; SOUZA, L.V.; FIDELIS, R.R.; GODOY, C.L.; COIMBRA, R.R.; MELO, A.V.; GUIMARÃES, L.J.M. Reação de cultivares de milho-pipoca à helmintosporiose. **Revista Ceres**, v. 49, p.13-521, 2002.

MUNKVOLD, G.P.; MARTINSON, C.A.; SHRIVER, J.M.; DIXON, P.M. Probabilities for profitable fungicide use against gray leaf spot in hybrid maize. **Phytopathology**, v. 91, p. 477-484, 2001.

NARITA, T.; HIRATSUKA, Y. Studies on *Kabatiella zeae* n. sp.; the causal fungus of new leaf spot disease of corn. **Annals of Phytopathological Society of Japan,** v. 24, p. 147-153, 1959.

NEVES, D.L.; SILVA, C.N.; PEREIRA, C.B.; CAMPOS, H.D.; TESSMANN, D.J. Cercospora zeina is the main species causing gray leaf spot in southern and central Brazilian maize regions. **Tropical Plant Pathology**, v. 40, p. 368-374, setembro, 2015.

OLIVEIRA, E.; FERNANDES, F.T.; CASELA, C.R.; PINTO, N.F.J.A.; FERREIRA, A.S. Diagnose e controle de doenças na cultura do milho. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V. (eds.). **Tecnologias de produção do milho**. Viçosa-MG: UFV, 2004. p. 226- 267.

OLIVEIRA, F.A.; OLIVEIRA, FILHO, A.F.; MEDEIROS, J.F.; ALMEIDA, JÚNIOR, A.B.; LINHARES, P.C.F. Desenvolvimento inicial da mamoneira sob diferentes fontes e doses de matéria orgânica. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 01, p.206-211, 2009.

PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; FERREIRA A.S.; MEIRELLES W.F.; MARRIEL I.E.; CASELA, C.R. Detection of a bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. **Journal of Phytophathology**, n.149, p. 275-279, 2001.

PACCOLA-MEIRELLES L.D.; MEIRELLES, W.F.; PARENTONI, S.N.; MARRIEL, I.E.; FERREIRA, A.S.; CASELA, C.R. Reaction of maize inbred lines to a bacterium, *Pantoea ananatis*, isolated from *Phaeosphaeria* leaf spot lesions. **Crop Breeding Applied Biotechnology**, v. 2, p. 587-590, 2002.

PATAKY, J.K. Common rust. In: DONALD, G.W. (ed.). **Compendium of Corn Diseases**. St. Paul, MN: The American Phytopathology Society, 1999. 176p.

PEGORARO, D.G.; BARBOSA, J.F.; DAL SOGLIO, F.K.; VACARO, E.; NUSS, C.N.; CONCEIÇÃO, L.D.H. Herança da resistência à mancha foliar de feosféria em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p.329-336, 2002.

PEREIRA, A.O.P.; CAMARGO, R.V.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho (*Zea mays*) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (eds.). **Manual de fitopatologia**: doenças de plantas cultivadas. Piracicaba: Ceres. 2005. p. 477-488.

PÉREZ-Y-TERRÓN, R.; CUELLAN, A.; MUÑIOZ-ROJAS, J.; CASTAÑEDA-LUCIO M.; HERNANDEZ-LUCAS, I.; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; BAUTISTA-SOSA, L.; MUNIVE, J.A.; CAICEDO-RIVAS, R.; FUENTES-RAMIREZ, L. E., Detection of *Pantoea ananatis*, causal agent of leaf spots disease of maize, in Mexico. **Australasian Plant Disease Notes**, n. 4, p. 96-99, 2009.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S.B. "MB4": Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes. 5. ed. Bahia: Fundação Junqueira Candiru, 2005. 273p.

PINHO, R.G.V.; RAMALHO, M.A.P.; RESENDE, I.C.; SILVA H.P.; POZAR, G. Reação de híbridos comerciais de milho às ferrugens polissora e tropical. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 36, p. 439- 445, 2001.

PINTO, N.F.J.A.; SANTOS, M.A.; WRUCK, D.S.M. Principais doenças da cultura do milho. Cultivo do milho no sistema de plantio direto. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 233, p.7-12, 03 jul. 2006.

PINTO, N.F.J.A.; SANTOS, M.A.; WRUCK, D.S.M. Principais doenças da cultura do milho. Cultivo do milho no sistema de plantio direto. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 233, p.7-12, 03 jul. Bimestral, 2006.

POMINI, A.M.; PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; MARSAIOLI, A.J. Acyl-homoserine lactones produced by *Pantoea* sp. Isolated from the "Maize White Spot" foliar disease. **Journal Agricultural Food Chemistry**, n. 55, p. 1200-1204, 2007.

RANE, M.S.; PAYAK, M.M.; RENFRO, B.L. The *Phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Indian Phytopathological Society Bulletin**, n. 3, p. 7-10, 1966.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; ARNY, D.C. Yeld loss of maize caused by *Kabatiella zeae*. **Phytopathology**, v. 73, n. 4, p. 607-609,1983.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; ARNY, D.C. Cultural and morphological variability of *Kabatiella zeae*. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 75, n. 2, p. 239-241, 1980.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Manual de identificação e controle de doenças de milho. Lavras: Ciências Agrotécnicas, 2004. 144p.

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

REIS, E.M.; REIS, A.C.; FORCELINI, C.A. **Manual de fungicidas:** guia para o controle químico de doenças de plantas. 5. ed. Passo Fundo: UPF-Editora, 2007. 153p.

RENFRO, R. Maize rusts. In: CASELA, C.; RENFRO, R.; KRATTIGER, A.F. (eds.). **Diagnosing maize diseases in Latin America**. New York, 1998. p. 8-14, (ISAAA Briefs, 9) Disponível em: < https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/09/download/isaaa-brief-09-1998.pdf >. Acesso em: 21, jul., 2016.

REZENDE, J.A.M.; MASSOLA JÚNIOR, N.S.; BEDENDO, I.; KRUGNER, T.L. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO. (eds.). **Manual de Fitopatologia**. V.1. Princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. p. 37-58.

RODRIGUES, V.W.B.; BUENO, T.V.; TEBALDI, N.D. Biofertilizers in the control of tomato bacterial spot (*Xanthomonas* spp.). **Summa Phytopathologica**, v. 42, n.1, p. 94-96, 2016.

ROLIM, G.S.; PEDRO JÚNIOR, M.J.; FANTIN, G.M.; BRUNINI, O.; DUARTE, A.P., DUDIENAS, C. Modelo agrometeorológico regional para estimativa da severidade da mancha de *Phaeosphaeria* em milho segunda safra no Estado de São Paulo, Brasil. **Bragantia**, n. 66, p. 721-728. 2007.

SANTOS NETO, J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; TEMPORAL, W.M.; ANDRADE, L.M. A.; SENA, J.O.A. Subprodutos de capim-limão no controle de septoriose do tomateiro cultivado em sistema de produção orgânico. **Revista Brasileira de Agroecologia**, n. 11, v. 1, p. 35-44, 2016.

SANTOS, A.C.; AKIBA, F. **Biofertilizantes líquidos: uso correto na agricultura alternativa.** Rio de Janeiro - Seropédica: Imprensa Universitária/UFRRJ. 1996. 35p.

SANTOS, I.; CAMOCHENA, R.; MALAGI, G. Milho - Mancha ocular é nova ameaça. Cultivar. Grandes Culturas, v. 1, p. 20. 2007.

SANTOS, I.; MALAGI, G.; SILVA, A. Ocorrência de Mancha Ocular em Milho Causada por *Kabatiella zeae* no Paraná e em Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 359, 2007.

SANTOS, I.; SILVA, A.; MALAGI, G. Ocorrência de mancha ocular em milho causada por *Kabatiella zeae* no Paraná e em Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira,** v. 32, p. 4, 2007.

SANTOS, I.; BETTIOL, W. Effect of sewage sludge on the rot and seedling damping-off of bean plants caused by *Sclerotium rolfsii*. **Crop Protection**, n. 22, p. 1093-1097, 2003.

SCHAAD, N.W.; JONES J.B.; CHUN, W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. St. Paul, MN, USA: APS Press, 2001. 164p.

SCHUELTER, A.R.; SOUZA, I.R.P.; TAVARES, F.F.; SANTOS, M.X.; OLIVEIRA, E.; GUIMARÃES, C.T. Controle genético da resistência do milho à mancha por phaeosphaeria. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 1, p.80-86, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (eds.). Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular. Piracicaba: FEALQ. 2008. p. 227-248.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO R.S. (eds.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba SP. FEALQ. 2005. p. 125-132.

SHAD, D.A.; DILLARD, H.R. Yield loss insweet com caused by *Puccinia sorghi*: a meta-analysis. **Plant Disease**, v. 90, p. 1413-1418, 2006.

SHIOGA, P.S.; GERAGE, A.C.; ARAÚJO, P.M.; BIANCO, R. Avaliação estadual de cultivares de milho segunda safra 2012. Londrina: IAPAR, 2012. 114p. (Boletim Técnico 78).

SILVA, D.D.; COTA, L.V.; COSTA, R.V. **Sistema de produção Embrapa**. Cultivo do milho. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2015. Disponível em: https://www.spo.cnptia. embrapa.br/home. Acesso em: 10, dez., 2017.

SILVA, O.C.; SCHIPANSKI, C.A. **Manual de identificação e manejo das doenças do milho**. 2. ed. Castro: Fundação ABC, 2007. 116p.

SILVA, S.F.; ARAÚJO, D.L.; FREITAS, B.V.; MESQUITA, E.F. Comportamento fisiológico do milho sob manejo orgânico. Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável. **Revista Verde, Mossoró-RN**, v. 6, n. 5, p. 33-39, out. 2011.

SOUZA, G.G. et al. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino irrigado com águas salinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n.2, p. 237-245, jun, 2012.

SOUZA, J.L.; RESENDE, P. Manual de horticultura orgânica. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 564p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do milho**. Sistemas de Produção, dez. 2006. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/ FontesHTML/Milho/CultivodoMilho>. Acesso em: 16, fev., 2017.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J.; FERREIRA, M.R.; GARCIA JUNIOR, O. Ação de acybenzolar-S-methyl isolado e em mistura com fungicidas no controle da requeima da batata. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.3, p.749-753, 2005.

WARD, J.M.J.; STROMBERG, E.L.; NOWELL, D.C.; NUTTER JR., F.W. Gray leaf spot – A disease of global importance in maize production. **Plant disease**, v. 83, n. 10, p.884-895, 1999.

WATANABE, M.; ARAI S. Freezing of water in the presence of the ice nucleation active bacterium, *Erwinia ananas*, andits application for efficient freeze-drying of foods. **Agricultural and Biological Chemistry**, n. 51, p. 557-563, 1987.

WHITE, D.G. Compendium of corn diseases. 3.ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 2000. 78p.

CAPÍTULO 1

Efeito do número de aplicações de biofertilizante para controle de Cercospora zeina na cultura do milho, em casa de vegetação

RESUMO

Os prejuízos relacionados com as doenças foliares na cultura do milho têm incentivado a busca por um programa que possibilite o controle de forma sustentável. A mancha de cercospora é uma das doenças que mais restringe a produtividade do milho no mundo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de biofertilizante no controle da Cercospora zeina Crous e U. Braun, em dois híbridos de milho, em casa de vegetação. Os tratamentos constituíram-se de uma a cinco aplicações sequenciais de biofertilizante na concentração de 2,0 L ha⁻¹ e fungicida epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ a 0,3 L ha⁻¹ + óleo mineral 0,5% e testemunha, em intervalos regulares. Os valores da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) demonstraram que os tratamentos com três, quatro e cinco aplicações em intervalos de seis dias, estatisticamente iguais entre si, reduziram em 35% a AACPD. O fungicida reduziu a AACPD da mancha de cercospora em 83%, com duas aplicações. Para a espessura de colmo, o híbrido MG 30A95 HX, no tratamento com cinco aplicações, apresentou medida significativamente maior que os demais. Para teor de clorofila, altura de plantas, massa fresca e massa seca, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados demonstram que o biofertilizante apresenta potencial para ser utilizado como ferramenta no controle da mancha de cercospora. No entanto, estudos complementares são de grande importância para elucidar a dose e frequência da utilização do produto.

Palavras-chave: Controle alternativo, cercosporiose, AACPD.

CHAPTER 1

Effect of biofertilizer frequency application to control Cercospora zeina in greenhouse maize

ABSTRACT

The losses related to corn leaf diseases has sought a program that allows a sustainable control. The cercospora spot is one of the diseases that restrict productivity in corn around the world. This way, the goal of this work was to evaluate the performance of biofertilizer to control of *Cercospora zeina* Crous e U. Braun in two corn hybrids, in greenhouse. The treatments were one to five applications sequential of biofertilizer in the concentration of 2.0 L ha⁻¹ and fungicide epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ to 0.3 L ha⁻¹ + mineral oil 0.5%, and control, in regular intervals. The values of (AACPD) showed that the treatments with three, four, and five applications in six days intervals are statistically similar themselves, reduced in 35 % of AACPD. The fungicide reduced AACPD of cercospora spot in 83%, with two applications. To stems thickness, the hybrid MG 30A95 HX, in the treatment with five applications presented values significantly higher than the remaining. To the chlorophyll content, plant height, fresh mass, and dry mass, there were no significant difference between treatments. The results demonstrated that the biofertilizer presents a potential to support the control of cercospora. However, further studies are of great importance to clarify the dose and frequency of use of the product.

Keywords: alternative control, cercosporiosis, AACPD.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) apresenta grande importância econômica no mundo. Entretanto, mesmo com a evolução gradativa das quantidades produzidas e rendimentos obtidos, a produção de grãos por unidade de área ainda não traduz o potencial genético dos híbridos disponíveis, levando a constantes buscas por alternativas que aumentem a produtividade (TRENTO et al., 2002; GUARESCHI et al., 2008).

A cultura do milho no Brasil tem ampla abrangência geográfica, ocupando as mais diversas condições edafoclimáticas. A exposição da cultura aos mais variados estresses bióticos e abióticos dificulta a exploração do máximo potencial genético para a produtividade de grãos, qualquer que seja o sistema de produção adotado. Desta forma é muito comum a ocorrência de elevado número de doenças. Dezenas de doenças foram identificadas na cultura de milho no Brasil, causando perdas significativas (POZAR et al., 2009). Estas perdas, associadas principalmente às doenças foliares e à incidência de podridões de grãos, têm causado ampla discussão sobre estratégias de manejo que visem ao desenvolvimento de um programa que permita controlar as doenças de forma sustentável.

A cercosporiose, cujo agente etiológico é o fungo *Cercospora* sp., conhecida internacionalmente como *gray leaf spot*, é uma doença de grande importância para a cultura do milho e considerada como uma das que mais limitam a produtividade dessa cultura no mundo (WARD et al., 1999). É uma das principais doenças foliares da cultura do milho no Brasil, tanto pelos prejuízos que tem causado aos híbridos suscetíveis, como pela sua ampla distribuição, sendo encontrada em todas as regiões produtoras de milho do país (BRITO et al., 2008). A partir do ano 2000, a doença, de ocorrência endêmica, na forma de pequenas e esparsas lesões foliares, começou a assumir proporções epidêmicas em várias regiões do país (JULIATTI et al., 2004).

Os danos associados às doenças foliares são decorrentes do mau funcionamento e da destruição dos tecidos fotossintéticos, devido ao aumento do número e da área das lesões, determinando a necrose na folha. Esse sintoma, seguido da necrose prematura das folhas, limitam o desenvolvimento de grãos (FANTIN, DUARTE e SAWAZAKI, 2005). Nos EUA e África do Sul, as perdas na produção podem variar de 25% a 65% (WARD e NOWELL, 1998; WARD et al., 1999). Na região sudoeste de Goiás em área de plantio direto, Brandão (2002) quantificou os danos da cercosporiose e encontrou valores que variaram de 40% a 51% para os híbridos suscetíveis, de 19% a 27% para os híbridos moderadamente resistentes e de

15% a 25% para híbridos resistentes.

Para o controle da doença, pesquisas com produtos naturais, como biofertilizantes, têm sido realizadas. Os biofertilizantes líquidos são produtos naturais obtidos da fermentação de materiais orgânicos com água, na presença ou ausência de ar (processos aeróbicos ou anaeróbicos). Podem possuir composição altamente complexa e variável, dependendo do material empregado, contendo os macros e microelementos necessários à nutrição vegetal. Além disso, por ser um produto obtido da fermentação, com a participação de bactérias e leveduras, quando aplicado devidamente, pode possuir também efeito fito hormonal, fungicida, bactericida, nematicida, acaricida e de repelência contra insetos. Atua, portanto, como um protetor natural das plantas cultivadas contra doenças e pragas, com menos danos ao ambiente e sem perigo para a saúde humana (SILVA et al., 2007).

Além da ação nutricional, os biofertilizantes apresentam ação fungistática e bacteriostática sobre fitopatógenos (BETTIOL et al., 1998) e na indução de resistência sistêmica em culturas agrícolas (MEDEIROS, 2002). Outros trabalhos têm constatado que esses compostos são ricos em metabólitos (micro e macromoléculas), como enzimas, antibióticos, vitaminas, toxinas, fenóis e outros voláteis, ésteres e ácidos, inclusive de ação fitohormonal (SANTOS e AKIBA, 1996; MEDEIROS, 2002). Por esta razão, têm sido realizadas pesquisas para a elucidação das suas propriedades antibióticas e fertiprotetoras de doenças de plantas cultivadas.

O objetivo deste trabalho foi verificar o desempenho de biofertilizante à base de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) no controle da *Cercospora zeina* Crous e U. Braun em dois híbridos de milho e avaliar a severidade da doença e características agronômicas e fisiológicas, no período de segunda safra em casa de vegetação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio experimental foi realizado na casa de vegetação, junto ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, no período de março a junho de 2016, em Maringá, estado do Paraná. O clima da região é do grupo Cfa, classificado como subtropical úmido mesotérmico (KÖPPEN-GEIGER, 1928).

2.1 Obtenção do patógeno, manutenção e preparo do inóculo de Cercospora zeina Crous& U. Braun

O isolado CTR-3 de *Cercospora zeina* Crous & U. Braun utilizado neste ensaio foi cedido pela micoteca do Laboratório de Micologia e Biologia Celular da Universidade Estadual de Maringá.

O patógeno foi transferido para placas de Petri em meio V8 e mantido em estufa incubadora de crescimento tipo B.O.D. durante 21 dias, a 25 ± 2 °C, 12 horas luz (lâmpada fluorescente). Após este período, três discos de micélio foram transferidos para Erlenmeyer de 500 mL, contendo 100 g de sementes de sorgo e 250 mL de água deionizada, previamente esterilizados a 120 °C, 1 atm, por 60 minutos e incubados em B.O.D a 21 °C ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas luz negra, durante 14 dias, para colonização e esporulação do patógeno nas sementes de sorgo.

2.2 Instalação do experimento em casa de vegetação

Os vasos para instalação do experimento, com capacidade para 5 L, foram preenchidos com substrato misto, composto de areia, composto orgânico à base de turfa e solo argiloso, na proporção de 1:1:2 (p:p:p). Para a manutenção da nutrição das plantas, foi utilizado adubo orgânico, 100 mL por vaso, aos 35 e 55 DAE (dias após a emergência das plantas), mistura de terra vegetal e esterco de galinha poedeira fresco, na proporção de 2:1 (p:p).

Os cinco tratamentos consistiram em número de aplicações foliares do biofertilizante em dois híbridos de milho: MG 652 PW e MG 30A95 HX, cedidos pela Morgan™, empresa Dow AgroScience, ambos híbridos simples de ciclo precoce, medianamente resistentes à *Cercospora zeina*. As testemunhas consistiram de: testemunha negativa (sem aplicação) e testemunha absoluta (fungicida 0,3 L ha⁻¹ epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹).

Utilizou-se quatro repetições por tratamento e cada parcela foi composta de um vaso com três plantas. Foram semeadas nove sementes por vaso e seis dias após a emergência foi realizado o desbaste das plantas em excesso, mantendo-se três plantas por vaso. Os vasos foram regados diariamente, de acordo com a necessidade, mantidos em ambiente protegido até o final do experimento.

O produto biofertilizante (Tabela 1), destinado para tratamento foliar, foi produzido em abril de 2015 a partir da fermentação dos ingredientes: folhas verdes de planta medicinal capim-limão (*C. citratus*), leite cru, caldo de cana, farinha de ossos, cinza de madeira de eucalipto, casca de ovos, levedura e água, completando um volume de 20 L. Após encerrar o processo de fermentação por 30 dias, o produto foi filtrado com tecido de algodão e armazenado em garrafas pet de 2,0 L na temperatura de 8,0 °C, por 11 meses e 25 dias, até o momento da primeira aplicação, quando foi realizado a análise química. Antes da aplicação, foi determinado o grau Brix 4,0° e pH 7,8 da calda pronta.

Tabela 1. Caracterização química dos bioformulados quanto aos teores de nutrientes, Maringá-PR. 2016Biofert.NKCaMgNaM.Org.PFeMnCuZnBoDens. g/ml99 <t< th=""><th></th></t<>															
Biofert.	N	K	Ca	Mg	Na	M.Org.	P	Fe	Mn	Cu	Zn	Во	Dens.	"U	C/N
	%					ppm					g/ml	pm	C/IN		
	0,26	0,40	0,64		0,09	1,26	340	85	80	6	13	10	0,98		
		-				1 1 0		~~	D 1						

Análises realizadas no Laboratório Unithal, Campinas – São Paulo.

2.3 Inoculação do patógeno Cercospora zeina

A inoculação ocorreu de acordo com os procedimentos empregados por Mathioni et al. (2006), com modificações. No estádio V3 (plantas com três a quatro folhas expandidas), por duas vezes, 24 e 31 DAE-dias após a emergência, foram depositadas cinco sementes de sorgo, colonizadas pelo patógeno, no cartucho de cada planta de milho. O experimento foi mantido em condições controladas, conduzido em câmara úmida, por 30 dias, por meio de irrigações diárias, forro de juta na superfície do solo e aparelho umidificador de ambiente, por 7 horas diárias, intercaladas hora sim/hora não, das 6 às 18 horas.

2.4 Tratamentos para controle de Cercospora zeina

Os tratamentos foliares consistiram de biofertilizante na proporção 1:60 (v:v; biofertilizante:água) + adjuvante LI 700® a 0,3%, fungicida epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), na dose de 0,3 L ha⁻¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v). Os tratamentos foram: T-0, sem aplicação (testemunha negativa), T-1 uma

única aplicação de biofertilizante, T-2 duas aplicações de biofertilizante, assim, sucessivamente, até tratamento T-5 com cinco aplicações de biofertilizante e T-6 duas aplicações de fungicida (testemunha absoluta).

A aplicação dos tratamentos com biofertilizante foi realizada individualmente para cada vaso, utilizando-se de um borrifador manual com bico cone, contendo 30 ml m⁻² de calda até o ponto de escorrimento. A primeira aplicação do biofertilizante ocorreu no estágio fenológico V3 – terceira folha expandida, três dias antes da inoculação de *C. zeina*. As demais aplicações foram realizadas com intervalos de sete dias. A primeira aplicação do fungicida foi realizada três dias antes da inoculação do patógeno e a segunda 17 dias após, buscando a melhor eficiência do produto para evitar a ocorrência das lesões de cercospora durante o período efetivo do experimento.

2.5 Avaliação de severidade de cercosporiose

Para a determinação da severidade, foram realizadas cinco avaliações, com intervalo de seis dias, iniciando 30 dias após a inoculação e retirada da câmara úmida, quando as lesões se tornaram visíveis. Para essa avaliação de cercosporiose, foi utilizada a escala diagramática de Canteri et al. (1999), observando-se individualmente cada folha de cada planta (seis a oito folhas por planta) e administrando uma nota para cada planta. Os níveis de severidade observados seguiram incrementos logarítmicos, obedecendo à"Lei do estímulo de Weber-Fechner", representando: 0,9; 2,0; 4,0; 9,0; 18,0; 32,0 e 51% da área foliar lesionada. A ocorrência e a severidade da cercosporiose entre as avaliações foram comparadas por meio da equação da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990). O cálculo da AACPD foi determinado pela equação: AACPD = $\{\Sigma[(yi + y_{i+1})/2].(t_{i+1}-ti)\}$ /n. Para esta equação, yi e yi+1 correspondem aos valores de severidade registrados em duas avaliações consecutivas; ti+1 - ti ao intervalo entre as duas avaliações e na duração do período de avaliação.

2.6 Avaliações das características agronômicas

Para a classificação das características agronômicas, foram avaliadas as seguintes variáveis: altura de planta (cm), espessura do colmo (mm), massa fresca (g) e massa seca (g). A medição da altura de planta e demais variáveis foi realizada na finalização do experimento, 77 DAE (dias após a emergência das plantas), em todas as plantas das parcelas do experimento, com a utilização de um bastão com medida métrica. O comprimento foi

determinado a partir da base do colmo até a altura da última folha do cartucho da planta. Para a medição da espessura do colmo, utilizou-se paquímetro digital, sendo medidas todas as plantas de cada parcela do experimento. A determinação da massa fresca foi obtida pela pesagem da parte aérea de todas as plantas logo após o encerramento do experimento. A massa seca foi obtida pela pesagem, após secagem, em estufa de circulação forçada, a 65 °C até massa constante (RAIJ, 1997) (ZENEBON et al., 2008). (SILVA e QUEIROZ, 2006)

2.7 Determinação do teor de clorofila

A metodologia utilizada para determinação do teor de clorofila foi de Arnon (1949) adaptada, o qual se fundamenta na extração das clorofilas a e b a partir de acetona. Após 70 DAE, foram retirados dois discos de folhas com 15 mm de diâmetro para cada planta, logo após acondicionados em vidros âmbar com 5,0 mL de acetona a 80% e mantidos durante sete dias em B.O.D., na ausência de luz, a 25 °C. Em seguida, foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 663 nm e 645 nm, para clorofila a e b, respectivamente. A determinação do teor de clorofila a foi realizada utilizando a fórmula:

Clorofila a= (0,0127.A663)-(0,00269.A645) Clorofila b = (0,0229.A645)-(0,00468.A663) Clorofila Total = Clorofila a + Clorofila b

O teor de clorofila total foi obtido pela soma dos resultados dos conteúdos de clorofila a e b e os valores expressos em mg .g⁻¹ de tecido fresco.

2.8 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos foram arranjados no esquema fatorial com testemunhas adicionais 2 x 5 + 2 (híbridos x doses de biofertilizante + testemunhas). Os resultados foram submetidos à análise de variância. Para avaliar o efeito entre os tratamentos, utilizou-se o teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Na comparação dos tratamentos em relação à testemunha absoluta (fungicida), utilizou-se o teste LSD. O software estatístico SISVAR 5.1 também foi utilizado (FERREIRA, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) a partir da severidade de cercospora

Pelos resultados de AACPD de mancha de cercospora, observou-se diferença entre os tratamentos estudados (Tabela 2). Para o híbrido MG 652 PW, os tratamentos com uma e duas aplicações são estatisticamente iguais entre si e com valores menores que a testemunha sem aplicação, com redução em média de 20,7% a AACPD. Os tratamentos com três, quatro e cinco aplicações foram estatisticamente iguais entre si, comparados com a testemunha sem aplicação, reduzindo em média 35,3% a AACPD, apresentando maior redução que os tratamentos com uma e duas aplicações, porém menor que o tratamento fungicida que reduziu 82,6% da AACPD.

Para o híbrido MG 30A95 PW, os tratamentos com uma e duas aplicações, foram estatisticamente iguais entre si e apresentaram AACPD inferior à testemunha sem aplicação reduzindo, em média, 19,8% a AACPD. Os tratamentos com três, quatro e cinco aplicações, estatisticamente iguais entre si, reduziram a AACPD em média 35,3%, sendo superiores aos tratamentos com uma e duas aplicações e com valores menores que o tratamento fungicida, que demonstrou uma redução de 83,4% da AACPD. Houve, portanto, no presente estudo, maior eficiência em reduzir a AACPD da mancha de Cercospora quando da utilização de três ou mais aplicações do biofertilizante. Possivelmente, nestas aplicações (3 a 5 aplicações após a inoculação), ocorreu ativação de enzimas de defesa nas plantas, diminuindo a colonização da cercospora na folha da planta de milho. Os tratamentos com três, quatro e cinco aplicações reduziram a AACPD consideravelmente para ambos os híbridos. Este trabalho sugere que, para o controle de doenças foliares na cultura do milho, em lavouras comerciais, o número de aplicações de biofertilizante é primordial.

Na comparação dos tratamentos dos dois híbridos entre si verificou-se que a AACPD do híbrido MG 652 PW apresentou valores significativamente maiores que o híbrido MG 30A95 HX, possivelmente por fatores genéticos inerentes aos híbridos apresentando diferenças quanto à suscetibilidade a cercospora.

A presença do capim limão (*C. citratus*) na composição do biofertilizante pode ter efeito supressor de doenças fúngicas devido à característica lipofílica de seu óleo essencial (BAKKALI et al. 2008), da mesma forma integrando-se para o controle de cercospora do

milho, certamente, contribui para promover o controle das doenças foliares do milho

O citral é o princípio ativo predominante no óleo essencial de capim-limão, podendo caracterizar de 65 a 85% dos compostos presentes (MARONGIU, et al., 2006). Trata-se de uma mistura de isômeros geranial (isômero trans, α-citral) e neral (isômero cis, β-citral). Além do citral, o óleo essencial desta planta possui boas quantidades de β-mirceno e geraniol (BARBOSA, et al., 2008), além de apresentar isoorientina, isoscoparina, sweriajaponina, isoorientina 2-O-ramnosídeo, orientina, ácido clorogênico, ácido caféico (CHEEL, et al., 2005). A hidrofobicidade do óleo essencial permite uma interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular, interferindo na sua permeabilidade e causando alterações em sua estrutura, dependendo das concentrações utilizadas (COSTA et al., 2011). O mesmo óleo pode ser ativo contra um amplo espectro de espécies de microrganismos, porém as concentrações mínimas inibitórias (CMI) podem variar (ANTUNES e CAVACOB, 2010). Tem-se verificado o controle de fitopatógenos tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características elicitoras (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

Souza et al. (2007) concluíram que o extrato de capim-limão foi eficiente na inibição do desenvolvimento do fungo *Fusarium proliferatum*, reduzindo a incidência de tombamento e podridão do colmo das plântulas de milho e aumentando a germinação de suas sementes.

Na comparação dos tratamentos de biofertilizante com o fungicida, verificou-se que a AACPD, para ambos os híbridos, são estatisticamente maiores que o fungicida, apresentando controle menor da doença (Tabela 2). Esses resultados demonstram que apenas com uma aplicação de biofertilizante é suficiente para reduzir a AACPD em relação à testemunha sem aplicação, entretanto, ao se utilizar o fungicida, os seus efeitos sobrepõem qualquer tratamento. De forma semelhante, Gonçalves et al. (2012) avaliaram a AACPD de doenças foliares de milho segunda safra e observaram que os índices de incidência e de severidade foram baixos, não havendo diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos que receberam aplicação de fungicida. No entanto, a aplicação de fungicida possibilitou aumento da produção de grãos. Fancelli e Dourado-Neto (2003) constataram que, ao se efetuarem duas aplicações de fungicidas propiconazole + difenoconazole, azoxystrobin + tebuconazole, na cultura do milho nos estádios fenológicos V8 (oito folhas) e R1 (pendoamento) para o controle de cercosporiose, é possível obter acréscimos de 27,7% a 38,9%, respectivamente, no rendimento de grãos. O controle da doença, de acordo com o relato, possibilita um acréscimo de produtividade e no rendimento de grãos da mesma forma o biofertilizante tem potencial para o controle dessa doença e ganho de produtividade quando aplicado seguidas vezes.

O fungicida, apesar de apresentar efeito diferenciado no controle das doenças, apresenta expressivo potencial de seleção de organismos resistentes, somado a outros efeitos colaterais, causando desequilíbrio no meio. O biofertilizante, devido a sua constituição natural em sintonia com o ambiente agroecológico, possui a vantagem de controlar os microrganismos não provocando desequilíbrios, garantindo a qualidade dos alimentos cultivados, ainda mais com baixo custo para o agricultor.

Tabela 2. Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD da mancha de Cercospora em dois híbridos de milho, sob a aplicação de doses de biofertilizante, em diferentes épocas de aplicação em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016

A #1: 2	AACPD				
Aplicações	MG 652 PW	MG 30A95 HX			
Testemunha negativa	561,48 cA ⁺	356,28 cB ⁺			
Única aplicação	444,89 bA +	278,00 bB +			
Duas aplicações	444,59 bA +	293,20 bB ⁺			
Três aplicações	393,69 aA +	220,78 aB ⁺			
Quatro aplicações	366,99 aA +	234,98 aB +			
Cinco aplicações	328,28 aA ⁺	235,49 aB ⁺			
Fungicida*	97,88	59,06			
CV(%)	1:	3,15			

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.+: as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são superiores ao fungicida, a 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

3.2 Determinação de clorofila

Em relação aos valores médios de clorofila da folha da planta de milho, verificou-se que não houve efeito dos diferentes tratamentos com biofertilizante em ambos os híbridos avaliados (Tabela 3). De forma semelhante, na comparação dos tratamentos à base de biofertilizante com o fungicida também não houve efeito significativo. Estes resultados sugerem a inexistência de efeitos nutritivos por meio dos tratamentos com biofertilizantes, aplicados nas plantas de milho, que poderiam favorecer o incremento de clorofila nas folhas. Os resultados encontrados quanto à ausência dos efeitos sobre o teor de clorofila ora observados divergem dos observados por Röder et al. (2015). Tais autores estudaram o efeito da aplicação foliar de um produto biofertilizante, como fermentado bacteriano do melaço da

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

cana, com 30% do aminoácido ácido L-glutâmico, em mudas de repolho no sistema orgânico. Os tratamentos compostos por concentrações do fermentado (0; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8 mL L⁻¹) foram aplicados nas folhas periodicamente, em intervalos de sete ou de 14 dias. Aos 35 dias após o plantio, foram determinados o índice relativo de clorofila, a área foliar e o volume do sistema radicular. O fermentado bacteriano promoveu aumento do índice relativo de clorofila, da área foliar e do volume radicular, quando aplicado com intervalos de 14 dias. Ficou evidenciado que o biofertilizante promoveu o desenvolvimento das mudas de repolho, porém, diferentemente do observado neste trabalho nas plantas de milho tratadas com o biofertilizante à base de capim-limão, no qual não houve interferência no teor de clorofila nas folhas.

Tabela 3. Teor de clorofila em dois híbridos de milho sob diferentes números de aplicação de biofertilizante, em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016

Amliana	Teor de clorofila (mg g ⁻¹)					
Aplicações	MG 652 PW	MG 30A95 HX	Média			
Testemunha negativa	0,39 ns	0,48 ns	0,44a			
Única aplicação de biofertilizante	0,42 ns	0,41 ns	0,42a			
Duas aplicações de biofertilizante	0,37 ns	0,41 ^{ns}	0,39a			
Três aplicações de biofertilizante	0,41 ^{ns}	0,41 ns	0,41a			
Quatro aplicações de biofertilizante	0,44 ns	0,48 ns	0,46a			
Cinco aplicações de biofertilizante	0,38 ns	0,47 ns	0,42a			
Médias	0,40A	0,44A				
Fungicida*	0,45	0,48				
CV(%)		21,04				

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

3.3 Avaliações das características agronômicas

3.3.1 Altura de planta e espessura de colmo

Na análise dos resultados dos tratamentos de biofertilizante para altura (cm) de plantas, verificou-se que não ocorreu diferença significativa entre os mesmos, para ambos os híbridos (Tabela 4). Entretanto, com a utilização de quatro e cinco aplicações, o híbrido MG 30A95 HX apresentou altura significativamente superior ao MG 652 PW. Para a variável altura de plantas, também foi possível analisar que não ocorreu diferença significativa entre os

^{ns}: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

tratamentos com biofertilizante e o tratamento fungicida. Diante dos resultados obtidos, certifica-se que a pulverização de biofertilizante, com até cinco aplicações seguidas, não interferiu na altura das plantas. Entretanto, o efeito nutritivo do biofertilizante não foi determinado, possivelmente porque os nutrientes presentes em sua composição não foram absorvidos ou a quantidade administrada foi insuficiente para apresentar qualquer efeito no desenvolvimento das plantas.

Vilella et al. (2012), pesquisando o desempenho agronômico de híbridos de milho sob a aplicação foliar de fungicidas, verificaram que a altura de plantas foi influenciada pelo aspecto característica do híbrido conforme seu caráter genético. Maddonni et al. (2001) advertem que estas são qualidades peculiares de cada híbrido, no entanto, podem mudar em consequência de circunstâncias ambientais específicas ou de anos agrícolas. Plantas com alturas menores têm sido desejável pelos produtores por permitir maior insolação e menor competição entre plantas, possibilitando o aumento da população de plantas e maior eficiência na colheita mecânica (ALMEIDA et al., 2000).

Da mesma forma, a variável espessura de colmo, para o híbrido MG 652 PW, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). Todavia, para o híbrido MG 30A95 HX, o tratamento com cinco aplicações apresentou valor significativamente maior que os demais tratamentos. Quando comparado os dois híbridos entre si, verificou-se que, com exceção dos tratamentos testemunha sem aplicação e com cinco aplicações, o híbrido MG 652 PW apresentou espessura significativamente maior que o MG 30A95 HX. As características genotípicas, juntamente com o efeito do biofertilizante e o fungicida, influenciaram a planta favorecendo a diferenciação da espessura do colmo, possivelmente minimizando condições para podridão de colmo.

Na comparação com o fungicida, verificou-se que, para o híbrido MG 652 PW, não houve diferença significativa em relação aos tratamentos com biofertilizante. Porém, para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos com uma e três aplicações de biofertilizante apresentaram espessura dos colmos estatisticamente menor que a testemunha absoluta, o fungicida. O fungicida destacou-se sobre os demais tratamentos, conferindo menor severidade e AACPD nas folhas das plantas, preservando, desta forma, a área foliar sintetizante e melhorando o balanço energético nas plantas. Possivelmente, esse efeito foi suficiente para obter melhor espessura de colmo quando comparado com alguns tratamentos. Este efeito é desejável, pois confere mais resistência ao colmo, minimizando efeitos que conferem podridão de colmo, com menor tombamento antes da colheita no campo.

A sustentabilidade do colmo em híbridos de milho foi pesquisada por Sangoi et al.

(2002), em diferentes épocas de cultivo e em diferentes densidades de plantas. A sustentabilidade do colmo e a produtividade de híbridos cultivados na década de 70, 80 e 90 foram avaliadas e os pesquisadores observaram incremento quando o estande de plantas passou de 25.000 para 100.000 plantas ha⁻¹, o que favoreceu maior quebra de colmos dos híbridos Ag 12 e Ag 303. O diâmetro do colmo e a baixa inserção da espiga contribuíram para diminuir a quebra de colmos antes da colheita no híbrido DKB 929, o que é imprescindível para preservar o potencial produtivo de híbridos de milho, possibilitando o aumento na densidade de plantas.

A espessura de colmo é determinante para sustentação da planta e espiga. Os tratamentos com cinco aplicações e fungicida promoveram diferença significativa, influenciando na espessura do colmo e evidenciado o efeito do tratamento.

Tabela 4. Altura de plantas (cm) e espessura do colmo (mm) de dois híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em diferentes épocas de aplicação, em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016

	Altura de	plantas (cm)		Espessura do colmo (mm)		
Aplicações	MG 652 PW	MG 30A95 HX	Média	MG 652 PW	MG 30A95 HX	
Testemunha negativa	68,50A	80,00A	74,25a	7,94aA	6,71bA	
Única aplic. de biofertilizante	68,25A	80,33A	74,29a	8,42aA	6,17bB ⁻	
Duas aplic. de biofertilizante	72,25A	77,92A	75,08a	8,42aA	6,75bB	
Três aplic. de biofertilizante	70,25A	80,42A	75,33a	7,45aA	6,15bB ⁻	
Quatro aplic. de biofertilizante	62,25B	74,80A	68,54a	7,98aA	6,42bB	
Cinco aplic. de biofertilizante	68,25B	80,83A	74,54a	8,04aA	8,05aA	
CV(%)	11,65			12,23		
Fungicida*	64,08	77,08	•	7,75	7,55	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

3.3.2 Massa fresca e massa seca

Para os dados de massa fresca (g) e massa seca (g), verificou-se que os valores obtidos não apresentaram diferenças significativas para ambos os híbridos e também para a média dos tratamentos com aplicações de biofertilizante (Tabela 5). Da mesma forma não ocorreram diferenças significativas ao se comparar os resultados dos tratamentos com o fungicida. O efeito do biofertilizante se igualou ao fungicida no que se refere à interferência nos teores de

[:] as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores à testemunha fungicida a 5% de probabilidade, pelo teste LSD. Os demais tratamentos não diferiram do tratamento com fungicida.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha⁻¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

massa fresca e massa seca, não incrementou o seu rendimento e, da mesma forma, não suprimiu a sua produção, o que é desejável. O efeito de controle da doença foi favorável, de tal modo que os valores de massa fresca e massa seca se mantiveram, de outra forma poderia ter ocorrido caso as doenças foliares afetassem a produção.

A dose aplicada de biofertilizante 1:60 (v:v; biofertilizante:água) não proporcionou efeito nutricional nas plantas, não ocorrendo incremento no acúmulo de massa fresca e seca. Por outro lado, Melo et al. (2011), pesquisando a produção de matéria seca de milho submetido à aplicação de calcário, conseguiram correlação positiva. Demonstraram que o efeito nutritivo do calcário para as plantas, diferente do biofertilizante utilizado no experimento, age decisivamente na nutrição das plantas e assim sendo promove acúmulo de matéria.

Outros estudos complementares devem ser realizados para avaliação do efeito do biofertilizante no campo, elucidando seu efeito na produtividade da cultura, período de armazenamento apropriado e também na qualidade dos grãos, no que se refere a grãos ardidos.

Tabela 5. Massa (g) fresca e seca de plantas de dois híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em diferentes épocas de aplicação, em casa de vegetação, Maringá - PR, 2016

Aplicações	Massa	fresca (g)	_	Massa seca (g)				
Aplicações	MG 652 PW	MG 30A95 HX	Médias	MG 652 PW	MG 30A95 HX	Médias		
Test. sem aplicação	57,64 ns	60,49 ns	59,07a	5,64 ns	6,87 ns	6,26a		
Única aplic. de biofertilizante	52,65 ns	55,76 ns	54,21a	5,2 ns	7,61 ns	6,41a		
Duas aplic. de biofertilizante	61,46 ns	64,78 ns	63,12a	6,37 ns	7,64 ns	7,01a		
Três aplic. de biofertilizante	58,16 ns	59,14 ns	58,65a	6,23 ns	7,43 ns	6,83a		
Quatro aplic. de biofertilizante	54,71 ns	57,64 ns	56,18a	5,53 ns	6,28 ns	5,91a		
Cinco aplic. de biofertilizante	54,92 ns	66,35 ns	60,64a	6,04 ns	8,09 ns	7,07a		
Médias	56,59A	60,69A		5,84A	7,32A			
Fungicida*	51,94	59,69	•	4,85	6,43			
CV(%)	16,43		•	23,37				

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

ns: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

4 CONCLUSÕES

O biofertilizante contendo a planta medicinal capim limão (*Cymbopogon citratus*) aplicado nas folhas de milho, em casa de vegetação, promoveu o controle da mancha de Cercospora.

Os tratamentos com três, quatro e cinco aplicações, com aplicações em intervalos de seis dias, demonstraram controle superior aos demais, reduzindo a AACPD da mancha de cercospora em 35%. O híbrido MG 30A95 HX apresentou valores de AACPD significativamente menores que o híbrido MG 652 PW, em todos os tratamentos.

O biofertilizante, na proporção 1:60 (v:v), não apresentou aumento no teor de clorofila na folha da planta de milho, da mesma forma também não interferiu na altura das plantas, na produção de massa fresca e massa seca; entretanto, cinco aplicações de biofertilizante promoveu o desenvolvimento do colmo, apresentando espessura maior que os demais tratamentos no híbrido MG 30^a95 HX.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.L.; MEROTTO JÚNIOR, A.; SANGOI, L.; ENDER, M.; GUIDOLIN, A.F. Incremento na densidade de plantas: uma alternativa para aumentar o rendimento de grãos de milho em regiões de curta estação estival de crescimento. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 23-29, 2000.

ANTUNES, M.D.C.; CAVACOB, A. The use of essential oils for postharvest decay control. A review. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p.351-366, 2010.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p.446–475, 2008.

BARBOSA, L.C.A.; PEREIRA, U.A.; MARTINAZZO, A.P.; MALTHA, C.R.A.; TEIXEIRA, R.R.; MELO, E.C. Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf samples. **Molecules**, v. 13, p. 1864-1874, 2008.

BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA,1998. 22p. (Circular Técnica, 2).

BRANDÃO, A.M.; JULIATTI, F.C.; BRITO, C.H.; GOMES, L.S. Manejo integrado de cercosporiose (*Cercospora zeae-maydis*) em milho, no cerrado brasileiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 401-408, 2002.

BRITO, A.H.; PINHO, R.G.V.; POZZA, E.A.; PEREIRA, J.L.A.R.; FARIA FILHO, E.M. Efeito da Cercosporiose no rendimento de híbridos comerciais de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 472-479, 2007.

BRITO, A.H.; PINHO, R.G.V.; SOUZA FILHO, A.X.; ALTOÉ, T.F. Avaliação da severidade da Cercosporiose e rendimento de grãos em híbridos comerciais de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 7, n.1, p. 19-31, 2008.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: Wiley, 1990. 532p.

CANTERI, M.G.; NASCIMENTO, M.A.; ANDRADE, E. C.; ALTHAUS, R. A.; FÜRSTENGERGER, A.L.F.; PRIA, M.D. Software para auxiliar em estimativas de severidade de doenças de milho. In: AGROSOFT 99 — CONGRESSO E MOSTRA DE AGROINFORMÁTICA, Campinas-SP, 1999. **Anais...** Campinas: Embrapa, 1999. p. 18-24.

CHEEL, J.; THEODULOZ, C.; RODRIGUEZ, J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). **Journal Agricultural Food Chemical**, v. 53, p. 511–2517, 2005.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; Resvenzol, L.M.F.; Paula, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n.2, p. 240-245, 2011.

FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. **Milho**: estratégias de manejo para alta produtividade. Piracicaba. ESALQ/USP, 2003. 208p.

FANTIN, G.M.; DUARTE, A.P.; SAWAZAKI, E. Controle químico de doenças foliares do milho. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SEGUNDA SAFRA, 8, 1995. Assis. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2005. p.195-218.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45. 2000. São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p.255-258, 2000.

GONÇALVES, M.E.M.P.; GONÇALVES JÚNIOR, D.; SILVA, A.G.; CAMPOS, H.D.; SIMON, G.A.; SANTOS, C.J.L.; SOUSA, M.A. Viabilidade do controle químico de doenças foliares em híbridos de milho no plantio de segunda safra. **Nucleus**, v. 9, n.1, p. 49-62, 2012.

GUARESCHI, R.F.; GAZOLLA, P.R.; PERIN, A.; ROCHA, A.C. Produção de massa de milho silagem em função do arranjo populacional e adubação. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 03, p. 468-475, 2008.

JULIATTI, F.C.; APPELT, C.C.N.S.; BRITO, C.H.; GOMES, L. S.;BRANDÃO, A. M.; HAMAWAKI, O.T.; MELO, B. Controle da feosféria, ferrugem comum e cercosporiose pelo uso da resistência genética, fungicidas e épocas de aplicação na cultura do milho. **Bioscience Journal**, v. 20, n. 3, p. 45-54, 2004.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. Klimate der Erde. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm. 1928.

MADDONNI, G.A.; OTEGUI, M.E.; CIRILO, A. G. Plant population density, row spacing and hybrid effects on maize canopy architecture and light attenuation. **Field Crops Research**, **Amsterdam**, v. 71, n. 3, p. 183-193, 2001.

MARONGIU, B.; PIRAS, A.; PORCEDDA, S.; TUVERI, E. Comparative analysis of the oil and supercritical CO(2) extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. **Natural Product Research.**, v. 20, p. 455-459, 2006.

MATHIONI, S.M.; CARVALHO, R.V.; BRUNELLI, K.R.; BELÓ, A., CAMARGO, L.E.A. Aggressiveness between genetic groups I and II of isolates of *Cercospora zeae-maydis*. **Scientia Agricola**, v. 63, p. 547-551, 2006.

MEDEIROS, M.B. Ação de biofertilizantes líquidos sobre a bioecologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis*. 2002. 110 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 2002.

MELO, L.C.A.; AVANZI, J.C.; CARVALHO, R.; SOUZA, F.S.S.; PEREIRA, J.L.A.R.; MENDES, A.D.R.; MACÊDO, G.B. Nutrição e produção de matéria seca de milho submetido a calagem e adubação sulfatada. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 2, p. 193-199, 2011.

POZAR, G.; BUTRUILLE, D.; DINIZ, H.S.; VIGLIONI, J.P. Mapping and validation of quantitative trait loci for resistance to cercospora infection in tropical maize (*Zea mays* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 3, p. 553-564, 2009.

RAIJ VAN, B.; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. Campinas: IAC, 1997. 279p.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Iowa State University of Science and Technology, 1993. 20p. (Special Report, 48).

RÖDER, C.; MÓGOR, A.F.; SZILAGYI-ZECCHIN, V.J.; FABBRIN, E.G.S.; GEMIN, L.G. Uso de biofertilizante na produção de mudas de repolho. **Revista Ceres**, v. 62, n.5, p. 502-505, 2015.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; GRACIETTI, M.A.; BIANCHET, P.; HORN, D. Sustentabilidade do colmo em híbridos de milho de diferentes épocas de cultivo em função da densidade de plantas. **Revista de Ciências e Agroveterinárias**, v. 1, n. 2, p. 60-66, 2002.

SANTOS, A.C.; AKIBA, F. **Biofertilizantes líquidos:** Uso correto na agricultura alternativa. Seropédica: Imprensa Universitária/ UFRRJ. 1996. 35p.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 54-56, 2003.

SILVA, A.F.; PINTO, J.M.; FRANÇA, C.R.R.S.; FERNANDES, S.C. **Preparo e uso de biofertilizantes líquidos.** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. 4p. (Comunicado Técnico).

SILVA, J.; QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos método químico e biológico. Viçosa: UFV, 2006. 235p.

SOUZA, A.E.F.; ARAUJO, E.; NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, n. 32, p. 465-471, 2007.

TRENTO, S.M.; IRGANG, H.H.; REIS, E.M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 06, p. 609-613, 2002.

VILELA, R.G.; ARF, O.; KAPPES, C.; KANEKO, F.H.; GITTI, D.C.; FERREIRA, J.P. Desempenho agronômico de híbridos de milho, em função da aplicação foliar de fungicidas. **Jornal de Biosciência**, v. 28, n. 1, p. 25-33, Jan./Feb. 2012.

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

WARD, J.M.J.; NOWELL, D.C. Integrated management for the control of maize gray leaf spot. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 3, p. 177-188, 1998.

ZENEBON, O.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. versão digital. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2008. 1020p.

CAPÍTULO 2

Utilização de biofertilizante em diferentes concentrações e número de aplicações para o controle de doenças foliares da cultura do milho no campo

RESUMO

As doenças foliares do milho tornam-se fatores limitantes da produção, quando associadas à ocorrência de clima propício e à utilização de variedades suscetíveis que contribuem para a evolução de epidemias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de biofertilizante acrescido de capim-limão (Cymbopogon citratus), no controle das doenças foliares de dois híbridos de milho e também dos componentes de produção, em condições de campo, no período de segunda safra. Os tratamentos no primeiro ano (2014) foram definidos com doses de biofertilizante nas concentrações 0,0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 L ha⁻¹, fungicida Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v), os tratamentos pulverizados nas parcelas nas fases fenológicas V10 décima folha desenvolvida e R1 - Pendoamento. No segundo ano (2015), os tratamentos constituíram-se de aplicações (uma a cinco), sequenciais do biofertilizante em uma única concentração (2,0 L ha⁻¹) de fungicida em intervalos regulares. Os valores da área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD obtidos foram baixos e apenas a mancha ocular (Kabatiella zeae) destacou-se no primeiro ano, supostamente devido aos fatores climáticos desfavoráveis às doenças. A ferrugem (*Puccinia sorghi*), no primeiro experimento no híbrido MG 652 PW, foi reduzida em 14% da AACPD. O mesmo híbrido para mancha de cercospora atingiu o ponto de máximo de controle utilizando 4,67 L ha⁻¹ de biofertilizante, com R² 0,83 (função quadrática). Comparando os tratamentos de biofertilizante com o fungicida, verificouse que, de um modo geral, o fungicida apresenta um controle igual ou superior ao biofertilizante. Para altura de plantas, apenas o híbrido MG 652 PW demonstrou diferença significativa entre os tratamentos. Para o índice SPAD-Soil Plant Analysis Development e NDVI- índice diferença de vegetação normalizada sobre clorofila, prolificidade, massa de mil grãos e produtividade, os tratamentos não apresentam diferença significativa entre si. Os resultados demonstram que o biofertilizante apresenta potencial para auxiliar no manejo das doenças foliares do milho, necessitando de estudos complementares.

Palavras-chave: Controle alternativo, Puccinia sorghi, doenças de milho.

CHAPTER 2

Use of biofertilizer in different concentrations and application number to control foliar diseases of corn culture in the field

ABSTRACT

The leaf diseases of corn become limiting factor to production when associated with the occurrence of favorable climate, use of susceptible varieties that contribute to the evolution of epidemics. The objective of this work was to evaluate the performance of a biofertilizer, plus lemongrass (*Cymbopogon citratus*), to control leaf diseases of hybrid corn, in the winter crop. The first year treatments (2014) were defined as biofertilizer on concentrations of 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, and 8.0 L ha⁻¹, fungicide Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-1 e and mineral oil 0.5 % Dash HC® 0,5% (v:v), were sprayed to plots on phenologic phases V10-tenth leaf developed and R1-blooming. The second year treatment (2015) had spraying application (one to five), following the biofertilizer on a unique concentration (2,0 L ha⁻¹) and fungicide, in regular intervals. The under the disease progress curve (AUDPC) values obtained were considerably low, eyespot (Kabatiella zeae) a bit more in the first year, supposedly due to unfavorable climate conditions to the diseases. The rusty spot (Puccinia sorghi), in the first experiment of hybrid MG 652 PW was reduced in 14 % of AACPD. The same hybrid to spot cercospora reached the maximum control point employing 4,67 L ha⁻¹ of biofertilizer, with R² 0,83 (quadratic function). Comparing the biofertilizer treatments with fungicide, it was observed that in general, the fungicide presents an equal or superior control to biofertilizer. To plant height, only the hybrid MG 652 PW demonstrated a significant difference between treatments. To the SPAD-Soil Plant Analysis Development and NDVI- Normalized Difference Vegetation Index (about chlorophyll), prolificacy, mass of thousand grains, and productivity; the treatments showed no significant differences among themselves. The results showed that the biofertilizers have potential to enhance the management of corn leaf diseases, needing further research.

Keywords: alternative control, *Puccinia sorghi*, corn diseases.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais plantados no planeta. As diversas formas de seu emprego, que perpassa pela simples utilização na nutrição animal até a indústria de alta tecnologia, caracterizam a sua importância econômica. De fato, a utilização do milho na alimentação animal corresponde à maior parte do consumo desse grão, isto é, cerca de 70% no mundo, no entanto, no Brasil varia de 60% a 80%, de acordo com a fonte da estimativa e do período considerado (DUARTE, 2002; GOES, et al., 2013).

O cultivo do milho de segunda safra está estabelecido na realidade agrícola do Paraná (SHIOGA et al., 2012), atingindo 71%. Em 2007, superou o milho verão, consolidando a predominância. No entanto, o manejo sem rotação de culturas, mantendo a sucessão soja-milho, tem provocado o agravamento da incidência e da severidade de doenças nas plantações (FANTIN e FURLAN, 2012). As doenças que se destacam nas lavouras de milho segunda safra, provocando os maiores danos nas plantas são: cercosporiose (Cercospora zeae-maydis), mancha branca (Phaeosphaeria maydis/Pantoea ananatis), ferrugens (Puccinia polysora, Puccinia sorghi e Physopella zeae), hemintosporioses (Exserohilum turcicum) e diplodia (Diplodia maydis, Diplodia zeae, Diplodia zeae-maydis, Stenocarpella maydis) (PINTO et al., 2007; FERNANDES e OLIVEIRA, 2000; CASELA et al., 2006).

Até o princípio da década de 1990, o controle das doenças de milho era realizado essencialmente pela utilização de híbridos resistentes. Atualmente, as doenças, de uma forma geral, são um fator limitante de produtividade. As lavouras conduzidas com sucessão sojamilho e a utilização de híbridos suscetíveis, associado à ocorrência de clima propício à evolução de epidemias, contribuem para o avanço da importância das doenças na cultura do milho e, desse modo, do uso de fungicidas (JULIATTI et al., 2004). No ano de 2010, no Paraná, numa pesquisa com 345 propriedades, 91% dos produtores estavam adotando o controle químico para o controle de doenças em suas lavouras (CRUZ et al., 2010).

Dessa forma, com o avanço indiscriminado da utilização de fungicidas nas lavouras de milho segunda safra, torna-se fundamental que ocorram pesquisas para amenizar o uso deste ou substituam por defensivos que tenham menor impacto no meio ambiente. Neste contexto, surgem os biofertilizantes.

O biofertilizante é um composto resultante da fermentação da matéria orgânica através da compostagem de resíduos orgânicos. Demonstra alta atividade microbiana e

bioativa, capaz de produzir maior proteção e resistência à planta contra o ataque de pragas e doenças. Ainda mais, podem atuar nutricionalmente sobre o metabolismo vegetal (CHABOUSSOU, 1987; PINHEIRO e BARRETO, 1996).

Pesquisas envolvendo derivados de plantas medicinais tem apontado o potencial de controle de fitopatógenos pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos. Palhano et al. (2004) estudaram a aplicação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) e citral isolados ou associados com pressão hidrostática, na viabilidade de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnose do mamão). Souza et al. (2011) utilizaram biofertilizante à base de folhas de eucalipto e verificaram efeito fungitóxico *in vitro* sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo branco) e inibição da germinação de escleródios em todas as concentrações testadas (25%, 50%, 75% e 100%). Da mesma forma, três isolados de *Rhizoctonia* sp. foram controlados *in vitro*, proporcionando inibição de 15% do crescimento micelial na concentração de 60% para o isolado 1, porém para os isolados 2 e 3 não houve inibição de crescimento (DALMOLIN et al., 2012 a, b).

Na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), houve redução da severidade de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) com a aplicação de biofertilizante à base de folhas de teca a 60%, a partir do terceiro trifólio, bem como redução da incidência da mela (*Thanatephorus cucumeris*) com aplicação de biofertilizante a 25%, individualmente, e na aplicação do biofertilizante a 25%, mais silício na proporção 1,0 L ha⁻¹, indicando o potencial deste produto no controle de doenças em feijão no norte de Mato Grosso (BULHÕES et al., 2012).

Avaliando o potencial de biofertilizante obtido a partir de folhas de eucalipto e de levedura no controle de doenças de feijão, Colares et al. (2013) observaram que não houve redução da antracnose (*C. lindemuthianum*) e da mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) quando as plantas foram submetidas ao tratamento com biofertilizante nas concentrações de 10%, 25%, 40% e 60%. Segundo os autores, o fato dos tratamentos não apresentarem eficiência no controle das doenças pode ter sido influência das condições climáticas no período de avaliação quando a precipitação acumulada foi de 12,5 mm, baixo período de molhamento foliar, fator determinante para infecção de fitopatógenos.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de biofertilizante à base de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), com fermentação anaeróbica e induzida, no controle das doenças foliares em dois híbridos de milho bem como na expressão dos componentes de produção, nas condições de campo, no período de segunda safra.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção do Biofertilizante

O biofertilizante utilizado nas pulverizações foliares foi produzido nos meses de março-abril, nos anos 2014 e 2015, no Centro Tecnológico da COCARI. O biofertilizante foi produzido a partir de fermentação anaeróbica induzida, utilizando folhas recém-colhidas de capim-limão (*C. citratus*), leite cru, caldo de cana, farinha de ossos, cinza de madeira de eucalipto, casca de ovos e levedura (fornecido pela Universidade Federal de Lavras – UFLA). Inicialmente, as folhas foram picadas, acondicionadas em galão, adicionando 80% do volume de água (pH 8,6). À parte, a garapa foi fervida e esfriada até 40 °C, adicionando a levedura e esta mistura foi colocada no galão para a fermentação. A metade dos demais ingredientes foi colocada no galão, realizando a mistura. A outra parte foi adicionada após sete dias, quando o volume de água foi completado para 20 L. O galão foi fechado hermeticamente, deixando uma mangueira na tampa para liberação de gases, submersa em um recipiente com água impedindo a entrada de ar. Após 30 dias, o produto foi filtrado em pano de algodão, determinado grau Brix (3,1°), pH (6,3), caracterização química (Tabela 1), engarrafado e armazenado à 8 °C até a aplicação dos tratamentos.

Tabela 1. Caracterização química do biofertilizante quanto aos teores de nutrientes, Mandaguari, PR (média dos anos 2014 e 2015)

Biofert.	N	K	Ca	Mg	Na	M.Org.	P	Fe	Mn	Cu	Zn	Во	Dens.	υΠ	C/N
				%					ppi	n			g/ml	pm	C/N
	0,38	0,37	0,60	0,16	0,10	1,05	690	163	113	57	142	112	1,03	6,30	2/1
Análises realizadas no Laboratório Unithal, Campinas – São Paulo.															

2.2 Instalação do experimento no campo

Dois experimentos foram implantados, sendo um em 28/02/2014 e o outro em 25/02/2015, segundas safras de milho, nos anos agrícolas 2014 e 2015, respectivamente. Os ensaios foram conduzidos no Centro Tecnológico da Cocari – CTC, situado no município de Mandaguari-PR, na latitude 23°30.525` Sul, longitude 51°42.860` Oeste, na altitude média de 650 m. O clima é tropical de transição para subtropical, segundo a classificação de Köppen (1948), que apresenta temperaturas médias anuais entre 20 e 22°C, com média do mês mais quente superior a 22°C e invernos brandos com períodos de seca hibernal pouco pronunciada

nos meses de julho a setembro. Os índices pluviométricos situam-se entre 1.200 mm e 1.800 mm por ano.

Antes da instalação do experimento, foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0 a 20 cm e determinadas às características químicas (Tabela 2), quando foram instalados os experimentos nos dois anos seguidos. O solo da área da instalação dos experimentos foi identificado como pertencente à classe latossolo vermelho distroférico, textura argilosa (EMBRAPA, 2006).

Tabela 2. Análise química do solo da área experimental COCARI- Mandaguari-PR

	Macronutrientes									
		рН	Al+3 H++	- A1+3 Ca+2-	+Mg+2 Ca+2	K⁺	P	С		
	CaCla	2 H ₂ O	(Cmolc di	(Cmolc dm ⁻³)			mg.dm ⁻³ g.dm ⁻³			
2014	5,0	5,7	0,0 3,3	5,6	4,3	0,3	2,0	18,0		
2015	4,9	5,7	0,0 3,6	5,7	4,1	0,3	4,0	22,0		
				Mic	ronutrientes	•				
	S	Na	В	Fe	Mn	Cu	Zn			
				mg.	dm ⁻³					
2014	5,2	1,0	0,4	41,5	21,0	15,0	10,0			
2015	5,5	1,5	0,4	51,0	17,5	16,5	6,0			

Extratores: B = Água quente; Al, Ca, Mg = KCl 1N; K, Na,Fe, Mn, Cu, Zn = Mehlich, S = Fosfato monocálcico.

Análises realizadas no Laboratório Unithal, Campinas – São Paulo.

As semeaduras foram realizadas no sistema de plantio direto para ambos os experimentos. As sementes utilizadas foram os híbridos MG 652 PW e MG 30A95 HX, Morgan (Dow Agro Science), ambos os híbridos simples, de ciclo precoce, e medianamente resistentes à maioria das doenças das folhas (Tabela 3). A sucessão de culturas soja e aveia preta antecederam o experimento de milho segunda safra no ano de 2014, no entanto, para o ano de 2015, foram a sucessão de milho segunda safra e soja que antecederam o experimento. A adubação de plantio utilizada foi N-P-K (10-15-15) 265 kg.ha⁻¹. A adubação de cobertura (nitrato de amônio 120 kg.ha⁻¹) foi aplicada no estágio V5 - cinco folhas desenvolvidas. O controle para o percevejo barriga verde (*Dichelops melacanthus* e *Dichelops furcatus*) foi realizado com a aplicação do inseticida Connect ® (0,75 L.ha⁻¹) e controle para plantas daninhas com os herbicidas Primóleo® (3,0 L.ha⁻¹) mais Soberan® (0,24 L.ha⁻¹).

As colheitas foram realizadas após a maturação fisiológica das sementes. Em 2014, com umidade de 17,2% e 20,5% para os híbridos MG 652 PW e MG 30A95 HX, respectivamente; em 2015, com umidade de 15,5% e 17,1 % para os híbridos MG 652 PW e MG 30A95, respectivamente, sendo que a umidade dos grãos foi determinada em cada parcela

para o cálculo da produtividade e corrigida para 13,0%.

Tabela 3. Caracterização dos híbridos de milho utilizados nos experimentos

Dagnag	Híbridos de milho				
Doenças	MG 652 PW	MG 30A95 HX			
Puccinia sorghi	MR*	MR			
Exserohilum turcicum	MR	MR			
Mancha branca	MR	MR			
Puccinia polysora	MR	MS			
Complexo de enfezamento	MR	MS			
Cercospora zeae maydis	MR	MR			
Bipolaris maydis	MR	MR			
Qualidade do colmo	MR	MR			
Qualidade do grão	MS	MR			

^{*} MR - Moderadamente resistente, MS - Moderadamente suscetível. Grupo de maturação precoce. Adaptado da MorganTM - https://www.morgansementes.com.br/

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições, em arranjo fatorial 2 X 7 (híbridos de milho X tratamentos foliares). Nos dois ensaios, as parcelas, unidades experimentais, foram constituídas de oito linhas de milho com espaçamento de 0,9 m por 4,0 m de comprimento, com área total de 28,8 m². A área útil da parcela, 16,2 m² para as avaliações do experimento, foi considerada seis linhas centrais de três m, descartando a linha de cada lateral e 0,5 m de todos os outros lados, constituindo a bordadura.

2.3 Caracterização dos tratamentos aplicados

Os tratamentos avaliados nos ensaios constituíram-se da combinação dos fatores doses de biofertilizante em concentrações diversas (Tabela 4), fungicida Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha⁻¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v) e testemunha sem aplicação. No segundo experimento, os tratamentos consistiram de aplicação sequencial do biofertilizante em uma única concentração (2,0 L.ha⁻¹) e fungicida (Tabela 5). Os mesmos tratamentos foram realizados para os dois híbridos estudados.

Para aplicação dos tratamentos foi utilizado pulverizador costal pressurizado com CO2, com pressão constante de 25 kgf cm⁻³ com seis pontas de aplicação, duplo leque sem indução de ar, série AD110° 0,15, com espaçamento de 50 cm entre pontas, com vazão de 124 L ha⁻¹, com gotas médias para distribuição da calda molhamento das folhas.

Tabela 4. Tratamentos foliares com biofertilizantes e fungicidas utilizados no primeiro experimento, segunda safra 2014 e estádios fenológicos das aplicações

Tratamentos	Estádio Fenológico
T-0 Testemunha sem aplicação	-
T-1 Biofertilizante 0,5 L.ha ⁻¹	V10 e R1
T-2 Biofertilizante 1,0 L.ha ⁻¹	V10 e R1
T-3 Biofertilizante 2,0 L.ha ⁻¹	V10 e R1
T-4 Biofertilizante 4,0 L.ha ⁻¹	V10 e R1
T-5 Biofertilizante 8,0 L.ha ⁻¹	V10 e R1
T-6 Fungicida Abacus 0,3 L.ha ⁻¹ , óleo mineral 0,5 %	V10 e R1

No segundo ano, foi utilizada a dose média 2,0 L.ha⁻¹ investigando o efeito do número de aplicações sobre o controle dos patossistemas.

Tabela 5. Tratamentos foliares com biofertilizante (2,0 L ha⁻¹) e fungicida, utilizados no segundo experimento – segunda safra 2015 - e período das aplicações

Tratamentos -	Período	de a	plicação	dos	tratamentos
Tratamentos -	1 CITOGO	uc a	pneaçao	uos	ti a tailiciitos

- T-0 Testemunha sem aplicações
- T-1 Uma aplicação no estádio de R1;
- T-2 Duas aplicações: no estádio V10 e R1;
- T-3 Três aplicações: no estádio V10, no R1 e 15 dias após;
- T-4 Quatro aplicações: no estádio V10, no R1, 15 e 30 dias após;
- T-5 Cinco aplicações: no estádio V10, no R1, 15, 30, 45 dias após;
- T-6 Fungicida Abacus 0,3 L.ha⁻¹, óleo mineral 0,5% nos estádios V10 e R1.

2.4 Avaliação da severidade e cálculo da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD)

A severidade das doenças foliares foi mensurada em seis avaliações a partir do florescimento pleno, isto é, 58 dias após a emergência das plantas (DAE), com intervalo de 12 dias entre elas, em cada experimento. A avaliação foi realizada em oito plantas marcadas no centro de cada parcela, nas folhas da espiga e na folha abaixo (folhas 0 e -1) de acordo com Cota (2010), somando 16 folhas por parcela.

As doenças analisadas ocorreram de forma natural, sendo avaliada a severidade de: 1) mancha de cercospora (*Cercospora zeae-maydis*), 2) mancha branca (*Pantoeae ananatis* ou mancha de *Phaeosphaeria* sp.), 3) mancha de helmintosporiose comum (*Exserohilum turcicum*), 4) mancha de ferrugem (*Puccinia sorghi*), 5) mancha ocular (*Kabatiella zeae*). As avaliações de severidade das doenças foliares foram realizadas pelo método direto dos sintomas e sinais, atribuindo valores de porcentagem foliar de ocupação pelas lesões do

patógeno na folha da planta, segundo as escalas diagramáticas. Para a mancha ocular foi utilizado a escala de Camochena et al. (2008); para ferrugem comum, mancha branca e mancha de cercosporiose foi utilizado a escala de Canteri et al. (1999); para mancha de helmintosporiose foi utilizado a escala de Lazaroto et al. (2012).

Com a avaliação da severidade das doenças, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990). O cálculo da AACPD foi determinado pela equação: AACPD = $\{\Sigma[(yi+y_{i+1})/2].(t_{i+1}-ti)\}/n$. Para esta equação, yi e yi+1 correspondem aos valores de severidade registrados em duas avaliações consecutivas; ti+1 - ti ao intervalo entre as duas avaliações e na duração do período de avaliação.

2.5 Avaliação do índice de clorofila SPAD - Soil Plant Analysis Development

No experimento I e II, foram realizadas três anotações do índice SPAD, dos níveis de clorofila, na porção mediana da folha da espiga da planta, em cinco folhas por parcela de milho. As avaliações iniciaram 65 dias após a emergência (DAE), com intervalos de quinze dias entre cada avaliação.

Segundo Amarante, et. al. (2008) o medidor de clorofila SPAD (clorofilômetro), proporciona leituras instantâneas, de uma maneira não destrutiva das folhas, o índice SPAD é tido como alternativa de indicação da concentração de N e da atividade fotossintética da planta. As leituras efetuadas pelo clorofilômetro correspondem ao teor de clorofila presente na folha da planta (AMARANTE et al., 2009), que por sua vez correlaciona-se positivamente com a concentração de N (PRADO e VALE, 2008; PORTO et al., 2011). A determinação indireta do teor relativo de clorofila é calculada pela quantidade de luz transmitida pela folha, por meio de dois ou três comprimentos de onda com diferentes absorbâncias que, independente do instrumento utilizado, fornecem uma leitura única proporcional às clorofilas a e b e aos carotenóides (Minolta Camera Co.).

Na apresentação dos resultados foram considerados os valores médios destas leituras.

2.6 Avaliação do índice diferença de vegetação normalizada - NDVI

Procedeu-se à avaliação do NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*) com o radiômetro portátil GreenSeeker® (Trimble, Ukiah, CA) nas duas linhas centrais de cada parcela, num comprimento de 3,0 metros de extensão, com 5,4 m². As avaliações foram realizadas no período de 70 e 100 DAE, nos estádios fenológicos R3 - grão leitoso e R5 - grão farináceo (FANCELLI 1986, 2000), respectivamente, após a segunda aplicação do

biofertilizante nos dois experimentos.

2.7 Avaliações das características agronômicas e componentes de rendimento

2.7.1 Altura das plantas e prolificidade

A avaliação da altura de plantas foi realizada aos 80 DAE, no estádio fenológico R4 – grão pastoso. Com medida métrica foram avaliadas dez plantas em cada parcela e contado o número de espigas por plantas (prolificidade) para determinar o índice de espiga. O índice de espigas por planta foi determinado pela razão entre número de espigas contadas pelo número total de plantas avaliadas.

2.7.2 Avaliação dos componentes de rendimentos produtividade e massa de mil grãos

As parcelas foram colhidas manualmente, seis linhas de três metros, deixando-se as bordaduras, para determinação da massa de mil grãos e a produtividade. A debulha dos grãos da espiga foi mecanizada e, na sequência, foi realizada a pesagem e a determinação da umidade dos grãos e descontando-se a impureza. Em seguida, os valores de peso dos grãos foram corrigidos para 13 % (130 g kg⁻¹) de umidade, padrão de comercialização. Calculou-se a produtividade expressa em quilogramas por hectare.

A massa de mil grãos foi determinada por meio da contagem de oito repetições de 100 grãos de cada parcela e posterior pesagem (BRASIL, 2009). A média foi multiplicada por dez e expressa em gramas.

2.8 Análise estatística

Nos dois experimentos, o delineamento experimental adotado foi em blocos completos casualizados. Os tratamentos foram arranjados no esquema fatorial com parcelas subdivididas (híbridos nas parcelas e tratamentos com biofertilizante nas subparcelas) com duas testemunhas adicionais.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e o teste F foi conclusivo na comparação das médias dos efeitos de cultivares. No experimento de 2014 a análise de regressão foi utilizada para verificar o comportamento das variáveis, em função das doses de biofertilizante, em nível de 5% de probabilidade.

No experimento de 2015 o teste de agrupamento de Scott-Knott foi utilizado na comparação das médias dos tratamentos com biofertilizante. Em ambos os experimentos, foi utilizado o teste LSD - *least significant difference* (teste de Fisher), em nível de 5% de probabilidade, na comparação dos tratamentos em relação às testemunhas adicionais. Esse teste compara todos os pares de médias, controla a taxa de erro ao nível de significância α para cada comparação dois a dois, mas não controla a taxa de erro do experimento (ACTION STAT, 2018).

Os dados originais de severidade apresentados para análise estatística foram transformados em $\sqrt{(y+1,0)}$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Experimento 1 (safra 2014)

3.1.1 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) das doenças foliares do milho

A AACPD da mancha ocular, mancha branca e mancha de helmintosporiose, para os híbridos MG 652 PW e MG 30A95 HX, também para mancha de cercospora e ferrugem apenas o híbrido MG 30A95 HX, em 2014, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com biofertilizante (Tabela 6). A média estimada foi igual à média calculada e a regressão linear não atende como modelo para explicar os resultados.

Para a ferrugem, o tratamento com 4,0 L.ha⁻¹ de biofertilizante, no híbrido MG 652 PW, reduz em 14% a AACPD quando comparado com a testemunha. Para a mancha de cercospora, no híbrido MG 652 PW, os resultados demonstram diferença significativa entre os tratamentos e a regressão linear serve como modelo para estudo dos resultados. As equações da regressão apresentaram coeficientes de determinação R² 0,65 (função cúbica) e R² 0,83 (função quadrática), respectivamente, para ajuste dos dados da mancha de ferrugem e mancha de cercospora. Por meio do ajuste da equação para mancha de cercospora, o híbrido MG 652 PW atingiu o ponto de máximo de AACPD com a utilização de 4,67 L.ha⁻¹ de biofertilizante, no entanto, houve aumento da AACPD com o aumento da concentração do biofertilizante. Os valores absolutos de AACPD para ferrugem e demais patossistemas avaliados foram considerados notadamente baixos, indicando a ocorrência de doenças pouco expressivas. Nas condições verificadas, possivelmente, devido aos fatores climáticos, como estiagem prolongada e poucas chuvas após o estádio R1 durante o período de condução do ensaio, ficou dificultada a estratificação do efeito dos tratamentos administrados. Os valores de AACPD de cercospora, para o híbrido MG 652 PW, aumentam progressivamente com o incremento da dose dos tratamentos, provocando um efeito antagônico ao esperado. Possivelmente, o biofertilizante provocou um estímulo positivo no fungo, causando maior esporulação e aumento da doença ao fornecer elementos para sua nutrição. Comparando os híbridos entre si, os resultados mostram que o híbrido MG 30A95 HX, para mancha ocular e mancha de cercospora, é mais suscetível que o híbrido MG 652 PW. No entanto, para as demais doenças,

praticamente não existem diferenças significativas entre os híbridos estudados.

Os valores da AACPD obtidos com o cálculo da severidade das doenças são consideravelmente baixos, apesar da mancha ocular apresentar valores um pouco maiores. Possivelmente devido aos fatores climáticos adversos (Anexo 1), a ocorrência das doenças foi reduzida, impedindo a estratificação dos resultados dos tratamentos aplicados (BARROS, 2011), de maneira que, quanto menor for a severidade das doenças, mais difícil será a distinção dos tratamentos aplicados. As doenças de plantas ocorrem como resultado da interação de um hospedeiro suscetível, um patógeno virulento e os fatores ambientais que, de certa forma, com pouca humidade no período após o florescimento das plantas, constituem-se componentes significativos desta interação (AGRIOS, 2005; AMORIM, 2011). Consequentemente, o ambiente é um componente fundamental e expressivo nesta interação, capaz de evitar a ocorrência de doenças mesmo na presença de hospedeiro suscetível e patógeno virulento (JESUS JUNIOR et al., 2003).

Bortolini e Gheller (2012), estudando a aplicação de diferentes fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho, observaram que, devido a fatores climáticos não houve ocorrência de doenças, principalmente mancha de cercospora e ferrugem polissora. Da mesma forma, Barros (2011), pesquisando a utilização de acibenzolar-S-metil (ASM) com o propósito de avaliar os efeitos em plantas de soja e milho sobre o controle de *Phakopsora pachyrhizi* e de *Cercospora* spp., verificou que as condições ambientais na área experimental não foram favoráveis para a evolução dos sintomas das doenças avaliadas durante a maior parte do ciclo das plantas, com a ocorrência tardia das doenças nas plantas. O autor observou que não houve diferença estatística entre os tratamentos, mas se diferenciaram em relação à testemunha, tanto para severidade como para AACPD.

Ao compararmos os tratamentos de biofertilizante com a testemunha absoluta fungicida, verificou-se nos resultados de AACPD que, de modo geral, o fungicida apresenta um controle igual ou superior ao biofertilizante para as doenças estudadas no primeiro experimento em 2014 (Tabela 6). Para a mancha ocular, no híbrido MG 652 PW, a aplicação de biofertilizante apresenta controle significativamente inferior ao fungicida para todos os tratamentos, no entanto, para o híbrido MG 30A95 HX, a interação não apresentou diferença significativa com fungicida para os tratamentos 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 L.ha-1 de biofertilizante, demonstrando resultados equiparados com o fungicida. Para os demais tratamentos, ocorreu controle menor que o fungicida.

Para a mancha de ferrugem, o híbrido MG 652 PW apresentou controle significativamente inferior ao fungicida, com exceção do tratamento 4,0 L.ha-1 de

biofertilizante que não apresentou diferença significativa com o fungicida. Entretanto, para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos de biofertilizante e testemunha sem aplicação, 0,5; 1,0 e 8,0 L.ha-1 apresentaram controle significativamente inferior ao fungicida. Os tratamentos com 2,0 e 4,0 L.ha-1 de biofertilizante não apresentaram diferença significativa com o fungicida, podendo ser equiparados quanto ao controle dessa doença.

Para a mancha de cercospora, no híbrido MG 652 PW, os tratamentos apresentam controle significativamente inferior ao fungicida e, para o híbrido MG 30A95 HX, os resultados são semelhantes. Os tratamentos não apresentam diferença significativa com o tratamento fungicida, exceto o tratamento com 1,0 L.ha-1 de biofertilizante que apresentou controle inferior ao fungicida. Para a mancha branca, no híbrido MG 652 PW, os tratamentos mostram resultados análogos, não apresentam diferença significativa com o tratamento fungicida, contudo, para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos testemunha sem aplicação, 0,5; 1,0 e 2,0 L.ha-1 apresentam controle significativamente inferior ao fungicida. Nos tratamentos com 4,0 e 8,0 L.ha-1, não houve diferença significativa com o tratamento fungicida. Para a mancha de helmintosporiose, no híbrido MG 652 PW, os tratamentos 1,0 e 2,0 L.ha-1 apresentaram controle significativamente inferior ao fungicida. O híbrido MG 30A95 HX não apresenta diferença significativa entre os tratamentos quando comparados com o fungicida, testemunha absoluta.

Apesar dos valores de AACPD serem considerados baixos, de uma forma geral, a AACPD dos tratamentos fungicida é menor que os tratamentos com biofertilizante. Pode-se constatar ainda que 50% dos valores de AACPD podem ser equiparados com o fungicida, evidenciando que ocorre a redução da AACPD das doenças pelo efeito do biofertilizante, demonstrando o seu potencial de controle das doenças foliares do milho. O controle alternativo de doenças para uma agricultura agroecológica e a produção de alimentos mais saudáveis e livres de agrotóxicos é viabilizado pelo biofertilizante que apresenta redução das doenças nas plantas de milho.

O uso de biofertilizantes demonstra ser uma alternativa para o controle de doenças. Gomes et al. (2009) e Rosa et al. (2007), pesquisando a utilização do biofertilizante Agro-Mos em videira, observaram a redução da incidência de míldio (*Plasmopara viticula*) e oídio (*Uncinula nector*). Estudando a mancha bacteriana em pimentão, Deleito et al. (2005) certificaram a ocorrência da redução das lesões nas folhas e frutos, por ação do biofertilizante Agrobio.

Tabela 6. Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD de mancha ocular (*Kabatiella zeae*), ferrugem (*Puccinia sorghi*), mancha de *Cercospora (Cercospora zeae-maydis*), mancha branca (*Pantoea ananatis*, *Phaeosphaeria maydis*) e mancha de helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*) de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em comparação com a testemunha fungicida, no campo, Mandaguari, PR, 2014

Doses de	Mancha ocular*		ferruge	ferrugem*		spora *	Manch	na branca*	M. helmi	intosporiose*
biofertilizante	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX
Testemunha sem aplicação	143,2b ⁻	111,9a ⁻	10,1a ⁻	8,9a ⁻	12,4b ⁻	2,1a ns	4,0a ns	6,1a ⁻	7,5a ns	8,9a ^{ns}
0,5 L.ha ⁻¹	144,7b ⁻	105,8a ns	10,3a ⁻	7,3a ⁻	18,1b ⁻	4,4a ns	5,3a ns	6,7a ⁻	25,4b ⁻	8,1a ns
1,0 L.ha ⁻¹	124,3a ⁻	98,0a ns	16,2a ⁻	11,5a ⁻	17,9b ⁻	5,9a ⁻	3,1a ns	5,0a ⁻	20,8a ⁻	8,7a ns
2,0 L.ha ⁻¹	128,5b ⁻	97,9a ns	10,9b ⁻	5,8a ns	28,1b ⁻	3,2a ns	2,3a ns	5,1a ⁻	13,8a ns	7,2a ns
4,0 L.ha ⁻¹	130,4b ⁻	97,6a ns	8,7a ns	6,6a ns	26,4b ⁻	4,3a ns	6,3a ns	3,9a ns	16,7a ns	9,5a ns
8,0 L.ha ⁻¹	144,0b ⁻	111,6a ⁻	15,7a ⁻	11,8a ⁻	21,7b ⁻	3,2a ns	5,4a ns	2,6a ns	14,2a ns	11,4a ns
Médias estimadas	$\bar{Y} = \hat{Y} =$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 103,8$	\hat{Y} = 10,146+4,6924x	$\bar{Y} = \hat{Y} = 8.6$	\hat{Y} =13,720+	$\bar{Y} = \hat{Y} = 3.8$	$\bar{Y}=\hat{Y}=4,4$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 4.9$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 16,4$	$\bar{Y}=\hat{Y}=9,0$
	135,9		$-2,0765x^2+0,1971x^3$ $r^2=0,65$		$6,6449x-0,7119x^2$ $r^2=0,83$					
Fungicida **	92,0	83,8	5,0	2,8	1,1	0,01	4,4	4,9	16,4	9,0
CV(%)	9,64	8,26	21,41	16,13	14,57	33,19	52,00	29,90	26,68	44,24

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

ns: não significativo, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida; -: as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores à testemunha fungicida, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*}Dados originais apresentados para análise estatística foram transformados em $\sqrt{(y+1,0)}$.

^{**} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-1 e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

3.1.2 Índice de clorofila SPAD e NDVI

A definição do teor relativo de clorofila através do clorofilômetro vem sendo empregado para avaliar o conteúdo nutricional da planta (TECCHIO et al., 2011), tornando-se um método eficiente para separar plantas com deficiência e com nível adequado de nitrogênio (ARGENTA et al., 2003). O índice SPAD pode sofrer variações diante das características genotípicas, espaçamento, manejo da cultura entre outros fatores (GODOY et al., 2008).

O índice SPAD, determinado pelo clorofilômetro, relativo ao teor de clorofila na folha da planta, não demonstrou diferença significativa entre os tratamentos com biofertilizante e a testemunha sem aplicação (Tabela 7). A média estimada foi igual à média calculada e a regressão linear não atende como modelo para explicar os resultados. Comparando os híbridos entre si, somente o tratamento 0,5 L.ha⁻¹ do híbrido MG 652 PW apresentou diferença significativa, os demais tratamentos não diferem entre si. Comparando os tratamentos os tratamentos do índice SPAD com a testemunha absoluta fungicida, verificase que não apresenta diferença significativa (Tabela 7). Possivelmente, os tratamentos com biofertilizantes aplicados nas dosagens pesquisadas não influenciaram o teor de clorofila nas folhas das plantas por não apresentarem um efeito nutritivo suficiente para promover um incremento de pigmentos fotossintético. O índice SPAD não possibilitou a distinção dos tratamentos aplicados. Os resultados apurados neste trabalho estão de acordo com os de Cavalcante et al. (2011), ao estudarem a clorofila e carotenóides em maracujazeiro-amarelo irrigado com águas salinas no solo com biofertilizante bovino. Esses pesquisadores certificaram que o aumento da concentração salina da água de irrigação reduziu a eficiência fotossintética nas folhas do maracujazeiro-amarelo. As frequências de aplicação do biofertilizante não influenciaram nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos.

Estudando a cultura do café, Reis et al. (2006) observaram correlações significativas entre a leitura do clorofilômetro e os teores de clorofila de folha de cafeeiro cv. Catuaí Amarelo (*Coffea arabica* L.), comprovando também a existência de correlação das leituras do clorofilômetro com a concentração de nitrogênio foliar, cuja deficiência é refletida em baixas concentrações de clorofila registradas por baixos valores de SPAD (CARDOSO et al., 2011).

Pesquisas demonstram que, para espécies anuais produtoras de grãos, como se observa para o milho e outras culturas (AMARANTE, 2010), existem uma correlação positiva entre o nitrogênio utilizado, o índice SPAD e a produtividade (HURTADO et al., 2009). Os resultados das pesquisas comprovam a eficiência do índice SPAD na avaliação da clorofila da planta e no estabelecimento de correlação com o nitrogênio foliar, o que não ocorreu neste

trabalho apresentado.

Para a comparação do índice de vegetação NDVI, obtido com radiômetro portátil, os tratamentos com biofertilizante demonstraram que não ocorre diferença significativa entre eles, sendo que a média calculada foi igual à média estimada e a regressão linear não atende como modelo para explicar os resultados (Tabela 7). Comparando os híbridos entre si, verificou-se que não ocorreu diferença significativa entre eles. Comparando o índice NDVI dos tratamentos com a testemunha fungicida, verificou-se que não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos, exceto com tratamento 8,0 L.ha⁻¹ do biofertilizante no híbrido MG 652 PW que demonstrou valor superior a todos os demais. Possivelmente, a maior dose de biofertilizante aplicado possibilitou um efeito de nutrição das plantas, acusado pelo radiômetro através das propriedades espectrais da vegetação, demonstrando que o biofertilizante influenciou o comportamento vegetativo das plantas, aumentando a biomassa.

Tabela 7. Índice SPAD e NDVI de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2014

Doses de	SP	AD	NDVI			
biofertilizante	MG 652 PW	MG 30A95	MG 652 PW	MG 30A95 HX		
Testemunha sem aplicação	60,7a ns	60,7a ns	0,360a ns	0,427a ns		
0,5 L.ha ⁻¹	58,2b ns	61,8a ns	0,397a ns	0,440a ns		
1,0 L.ha ⁻¹	60,3a ns	60,3a ns	0,393a ns	0,390a ns		
2,0 L.ha ⁻¹	60,3a ns	60,7a ns	0,352b ns	$0,429a^{ns}$		
4,0 L.ha ⁻¹	60,5a ns	61,5a ns	0,385a ns	0,414a ns		
8,0 L.ha ⁻¹	59,6a ns	61,7a ns	0,416a +	0,401a ns		
Médias estimadas	$\bar{Y} = \hat{Y} = 59,90$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 61,1$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 0.38$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 0.42$		
Fungicida *	58,6	61,4	0,324	0,42		
CV(%)	5,20	2,71	17,55	11,48		

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Grohs et al. (2009), estudando modelos para estimativa do potencial produtivo em trigo e cevada por meio do sensor Greenseeker, determinaram a relação entre a biomassa e o NDVI pela adequação de equações de regressão e ajustaram uma regressão polinomial de segundo grau. Em sensoriamento remoto, a utilização de funções exponenciais é comum para divulgar a relação da variável indicadora com o NDVI (LIU, 2006). A resposta do NDVI ao

ns: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD; +: as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são superiores à testemunha fungicida, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

incremento da biomassa é o comportamento-padrão e, de forma similar, também foi observado por Moges et al. (2004), que utilizaram o sensor Greenseeker em trigo, ajustando, porém, regressões exponenciais sobre a relação entre a biomassa acumulada na parte aérea no final do perfilhamento e o NDVI.

3.1.3 Avaliações das características agronômicas e componentes de rendimento

3.1.3.1 Características agronômicas altura das plantas e prolificidade

Ao se avaliar a altura de plantas no ano de 2014, para os tratamentos com biofertilizante, no híbrido MG 652 PW, verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (Tabela 8). Com o aumento das doses do biofertilizante, foi possível o ajuste de equação cúbica com coeficiente de determinação R² de 0,70. O tratamento 2,0 L.ha⁻¹ apresentou maior altura, 2,09% maior que a testemunha sem aplicação do biofertilizante. No entanto, o tratamento 4,0 L.ha⁻¹, destoando dos demais, apresentou a menor altura (2,44%, menor que a testemunha sem aplicação). O efeito antagônico pode ter ocorrido possivelmente devido a um efeito nutritivo, no qual a dose de 4,0 L.ha⁻¹ provocou um efeito supressor no crescimento das plantas, talvez pelo desbalanço de algum nutriente na composição do biofertilizante.

Comparando os híbridos entre si, verificou-se que o híbrido MG 652 PW apresentou valores menores da altura de plantas do que o híbrido MG 30A95 HX. Confrontando os tratamentos com a testemunha fungicida, verifica-se que não ocorre diferença significativa para ambos os híbridos de milho, evidenciando que os tratamentos com biofertilizante não interferiram na altura das plantas do experimento.

Vilela et al. (2012), pesquisando o desempenho agronômico de híbridos de milho sob tratamento foliar de fungicidas, observaram diferenças significativas na altura das plantas. As plantas de menor altura facilitam a penetração da luz no dossel e diminui a competição intraespecífica por recursos naturais (ALMEIDA et al., 2000), dessa forma, plantas menores tem tido preferência entre os agricultores que cultivam milho, pois facilitam o plantio com maior população de plantas, diminuem o acamamento e, consequentemente, promove melhor rendimento na colheita mecanizada.

Para prolificidade, no ano de 2014, comparando os tratamentos de biofertilizante, verificou-se que, para os híbridos MG 652 PW e MG 30A95 HX, a regressão linear não atende como modelo para explicar os resultados, sendo a média estimada igual a média

calculada (Tabela 8). No entanto, comparando os dois híbridos entre si, constatou-se que, para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos testemunha sem aplicação e 2,0 L.ha⁻¹ de biofertilizante apresentaram diferença significativa, com valores menores que do híbrido MG 652 PW. Contudo, quando os tratamentos foram comparados com a testemunha absoluta fungicida, observou-se que não ocorreram diferenças significativas entre os híbridos e as respectivas testemunhas. Dessa forma, comprovou-se que os tratamentos não afetaram o número de espigas por plantas, embora aponte uma tendência do híbrido MG 652 PW ser mais prolífico devido a sua característica genética. Este fato é desejável, pois a compensação de espiga em função da ocupação do espaço no estabelecimento da lavoura favorece o aumento de produção da cultura.

Tabela 8. Resultados médios da altura de plantas e prolificidade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2014

D 11' C ('T')	Altura de	plantas (m)	Prolificidade			
Doses de biofertilizante	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX		
Test. sem aplicação	2,30b ns	2,41a ns	1,7a ns	1,4b ns		
0,5 L.ha ⁻¹	2,30b ns	2,40a ns	1,4a ns	1,4a ns		
1,0 L.ha ⁻¹	2,30b ns	2,38a ns	1,6a ns	1,4a ns		
2,0 L.ha ⁻¹	2,35b ns	2,42a ns	1,6a ns	1,3b ns		
4,0 L.ha ⁻¹	2,24b ns	2,39a ns	1,6a ns	1,5a ns		
8,0 L.ha ⁻¹	2,30b ns	2,43a ns	1,6a ns	1,4a ns		
Médias estimadas	Ŷ=2,286+0,0	$\bar{\mathbf{Y}} = \hat{\mathbf{Y}} = 2,40$	$\bar{\mathbf{Y}} = \hat{\mathbf{Y}} = 1,6$	$\bar{\mathbf{Y}} = \hat{\mathbf{Y}} = 1,4$		
	646x-					
	$0,0289x^2+0,0$					
	$026x^3$					
	$r^2 = 0.70$					
Fungicida*	2,29	2,41	1,5	1,3		
CV(%)	1,48	2,1	7,69	10,94		

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

O biofertilizante aplicado nos tratamentos contém 0,38 % de nitrogênio (Tabela 1), o que possivelmente pode interferir na nutrição das plantas. Examinando a influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja, Kappes et al. (2009) verificaram que a prolificidade não foi influenciada, significativamente, pelos fatores estudados. Três fontes de adubação nitrogenada e três épocas de aplicação, que

^{ns}: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

alegam ser essa uma característica pouco afetada por fatores extrínsecos à planta. Porém, Sangoi e Almeida (1994) verificaram aumento no número de espigas por planta, com a aplicação de até 50 kg ha⁻¹ de N, em ano, com boa distribuição hídrica. A ausência de efeito significativo sobre prolificidade pode ser justificada pelas características genética intrínsecas de cada híbrido empregado.

3.1.3.2 Componentes de rendimento massa de mil grãos e produtividade

Na avaliação da aplicação de diferentes doses do biofertilizante, em 2014, analisando a massa de mil grãos, verificou-se que, para os tratamentos de ambos os híbridos, a média estimada é igual à média calculada e dessa forma a regressão linear não atende como modelo para explicar os resultados (Tabela 9). Quando comparados os híbridos entre si, verificou-se que e o híbrido MG 30A95 HX apresentou valores significativamente maiores. Confrontando-se os tratamentos com a testemunha fungicida. Para o híbrido MG 652 PW, foi observado, todos os tratamentos apresentam valores menores que o fungicida, enquanto que, para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos 0,5 e 1,0 L.ha⁻¹ não apresentam diferença significativa com o fungicida. Todos os demais tratamentos apresentam valores significativamente menores que o fungicida, demonstrando que este tratamento promoveu incremento na massa de mil grãos.

Estudando a viabilidade do controle químico de doenças foliares em híbridos de milho no plantio de segunda safra na avaliação da massa de mil grãos, Gonçalves et al. (2012) verificaram o efeito benéfico do uso de duas aplicações de fungicida, demonstrando diferença significativa para o híbrido Impacto. Por outro lado, Vilela et al. (2012), avaliando o desempenho agronômico de híbridos de milho, sob aplicação foliar de fungicidas, observaram que a massa de mil grãos não foi influenciada pela aplicação dos tratamentos foliares, o que corrobora as pesquisas de Sangoi et al. (2002), que comunicam que esse item da produção é menos afetado pela diversidade das práticas de manejo. Deve-se salientar que a massa de cada grão é resultado da duração do período de enchimento e da taxa de desenvolvimento do grão, sendo dependente de fatores que comandam a disponibilização de fotoassimilados (VILELA, 2012). Resultados semelhantes observam-se neste trabalho, nos quais os dados avaliados para massa de mil grãos demonstram que, possivelmente, a baixa ocorrência da doença não interferiu na fotossíntese das plantas, não afetando, por conseguinte, a massa dos Grãos.

Na avaliação da produtividade, foram observados resultados similares aos da massa de mil grãos, tanto na comparação dos híbridos quanto na comparação das doses (Tabela 9).

Desse modo, não foi possível o ajuste de regressão na explicação dos resultados. Contrapondo os tratamentos com a testemunha absoluta fungicida, observou-se que os tratamentos 2,0 e 8,0 L.ha⁻¹ do híbrido MG 652 PW demonstraram valores significativamente menores que o fungicida e os demais tratamentos não apresentam diferença significativa. Para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos 2,0 e 4,0 L.ha⁻¹ apresentam valores significativamente menores que o fungicida, no entanto, para os demais tratamentos, não ocorreu diferença significativa com o fungicida. O tratamento fungicida demonstrou valores de produtividade significativamente maiores que os demais, possivelmente devido ao controle das doenças ser mais eficiente, preservando a área foliar fotossintética e melhorando o balanço de energia das plantas.

Tabela 9. Resultados médios da massa de mil grãos e da produtividade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2014

Doses de	Massa de	mil grãos (g)	Produtivid	ade (kg.ha ⁻¹)
biofertilizante	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX
Test. sem aplicação	304,5b ⁻	387,0a ⁻	6672,3b ns	7339,4a ns
0,5 L.ha ⁻¹	303,5b ⁻	390,4a ns	6553,5b ns	7419,7a ns
1,0 L.ha ⁻¹	299,2b ⁻	391,1a ns	6766,2b ns	7321,9a ns
2,0 L.ha ⁻¹	299,3b ⁻	384,2a ⁻	6515,9b ⁻	7179,4a ⁻
4,0 L.ha ⁻¹	299,3b ⁻	388,3a ⁻	6728,8b ns	7209,0a ⁻
8,0 L.ha ⁻¹	299,2b ⁻	384,7a ⁻	6456,3b ⁻	7265,7a ns
Médias estimadas	$ar{\mathrm{Y}} = \hat{\mathrm{Y}} =$			
	300,8	$\bar{Y} = \hat{Y} = 387,6$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 6615,5$	$\bar{Y} = \hat{Y} = 7289,2$
Fungicida *	312,7	396,8	6931,5	7672,6
CV(%)	1,79	2,07	5,90	5,44

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Os resultados dos tratamentos do biofertilizante foram semelhantes aos de Lago e Nunes (2008), que avaliaram a produtividade de milho em relação à aplicação de fungicidas em diferentes estádios e observaram que, apesar da aplicação foliar de fungicidas ter diminuído a incidência de doenças foliares no milho, este comportamento não refletiu em aumento de produtividade, a qual foi influenciada apenas pelo fator genético dos híbridos. De

ns: não significativo, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida; -: as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores à testemunha fungicida, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha⁻¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

forma diferente foram os resultados com uso de fungicida, que apresentaram acréscimo de produtividade devido sua aplicação foliar. Para complemento de controle, pode-se utilizar os fungicidas, porém de forma criteriosa. O agricultor deve dar preferência para híbridos resistentes às doenças mais prejudiciais e, principalmente, realizar rotação de culturas (CRUZ e PEREIRA FILHO, 2009).

Os tratamentos não apresentaram efeito significativo na produtividade, cuja média de 7.302 kg ha⁻¹ está dentro do esperado para a região e obtida pelos agricultores na segunda safra no Paraná, 5.614 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017), mostrando que o biofertilizante não contribuiu para o incremento de produtividade. Estes resultados apontam para um efeito climático reduzindo a ocorrência e a intensidade das doenças foliares, de maneira que não foi possível quantificar satisfatoriamente os tratamentos aplicados. No entanto, mesmo em condições de pouca ocorrência de doenças, o fungicida deixou evidente o seu efeito no incremento de produtividade. Isso se deve provavelmente pelo seu efeito no controle das doenças ou mesmo pela ação fisiológica.

3.2 Experimento 2 (safra 2015)

3.2.1 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) das doenças foliares do milho

Na safra de 2015, avaliando o biofertilizante na dose de 2,0 L.ha⁻¹ e variando o número e a época de aplicação em cada parcela, verificou-se que, para mancha ocular, no híbrido MG 652 PW, o tratamento com cinco aplicações apresentou controle superior aos demais, sendo que, para os demais tratamentos, não ocorre diferença significativa (Tabela 10). Também para mancha ocular, o híbrido MG 30A95 HX não apresenta diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

Para mancha de cercospora, o híbrido MG 652 PW não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, porém, para o híbrido MG 30A95 HX, o tratamento com cinco aplicações apresentou controle superior aos demais, sendo que os demais não demonstram diferença significativa entre si.

Para a mancha branca, o híbrido MG 652 PW não demonstrou diferença significativa entre os tratamentos, porém, para o híbrido MG 30A95 HX, o tratamento com cinco aplicações apresenta controle superior aos demais, os quais não demonstram diferença significativa entre si. Comparando a mancha de ferrugem e a mancha de helmintosporiose,

para ambos os híbridos, observou-se que não houve diferença significativa entre eles e entre os tratamentos.

O tratamento com cinco aplicações apresentou diferença significativa, reduzindo AACPD em 32%, 97,4% e 60,9% em três situações distintas quando comparadas com a testemunha sem aplicação, para mancha ocular, o híbrido MG 652 PW, para mancha de cercospora e mancha branca, o híbrido MG 30A95 HX, respectivamente, onde demonstram indicativos do controle da doença pela ação do biofertilizante. O efeito indutor de resistência do biofertilizante evidencia que para a cultura do milho nas condições de cinco aplicações ou mais demonstra efeito satisfatório para controle de mancha ocular, mancha branca e mancha de cercospora. Com esses resultados torna-se possível a utilização do biofertilizante no controle das doenças foliares do milho nas lavouras em geral e principalmente dentro de manejo agroecológico, possibilitando a obtenção de um produto livre de agrotóxicos. McDonald et al. (2001) desenvolveram estudos que demonstram que o efeito do biofertilizante no incremento de resistência de plantas foi comprovado por diversos experimentos.

Estudando a lesão causada por *Botritys cinerea* em gerâneo (*Pelargonium hortorum*) quando a planta foi pulverizada com biofertilizante e inoculada com patógeno, Buck (2002) verificou uma limitação no progresso das lesões. Estudando o efeito de Agrobio, biofertilizante elaborado com a adição de esterco bovino fresco, água, melaço e sais minerais, Deleito et al. (2005) avaliaram o efeito de antibiose contra *Xanthomonas euvesicatoria*, *in vitro*, mancha-bacteriana do pimentão e observaram que a inibição do crescimento do patógeno na concentração acima de 5%, além disso os autores sugeriram que é viável a sua utilização como medida auxiliar de controle com a comprovação em condições de campo.

Comparando os dois híbridos entre si, para mancha ocular, ferrugem, e mancha de helmintosporiose verificou-se que não ocorre diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, para mancha de cercospora e mancha branca, o híbrido MG 30A95 HX, apresenta diferença significativa com maior susceptibilidade às doenças do que o híbrido MG 652 PW, sendo que para esse último patossistema os tratamentos testemunha sem aplicação e cinco aplicações não apresentam diferença significativa entre os híbridos. Foi verificado que as doenças foliares do milho foram influenciadas pela disponibilidade de água, e tal efeito pode estar associado ao próprio caráter genético dos genótipos utilizados. Maddonni et al. (2001) destacam que estas são características peculiares de cada híbrido, no entanto podem variar em decorrência de condições ambientais localizadas ou de anos agrícolas.

Comparando os valores de AACPD dos tratamentos de biofertilizante com a

testemunha absoluta fungicida, pode-se verificar que, para a mancha ocular, em ambos os híbridos estudados, os tratamentos com cinco aplicações apresentam valores significativamente menores que o fungicida e maior controle da doença, porém, para os demais tratamentos, não apresentam diferença significativa (Tabela 10).

Para ferrugem, os valores de AACPD dos tratamentos não apresentam diferença significativa, quando comparados com o fungicida. Para mancha de cercospora, o híbrido MG 652 PW, o tratamento com cinco aplicações apresentou valor de AACPD menor, demonstrando maior controle que o fungicida e demais tratamentos. Entre os demais tratamentos, não ocorre diferença significativa. Para o híbrido MG 30A95 HX, ainda para mancha de cercospora, para os tratamentos com uma, duas, três e cinco aplicações apresentaram diferenças significativas com valores menores de AACPD, consequentemente maior controle que o fungicida e demais tratamentos, mas os tratamentos testemunha sem aplicações não apresentam diferença significativa entre si e com fungicida, testemunha absoluta.

Para mancha branca, no híbrido MG 652 PW, o tratamento com cinco aplicações apresentou diferença significativa com fungicida, resultando em valor menor de AACPD e maior controle, no entanto, para os demais tratamentos não houve diferença significativa. Para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos com uma, duas e cinco aplicações apresentaram diferença significativa com o fungicida, mostrando valores menores de AACPD e melhor controle.

Para mancha de helmintosporiose, o híbrido MG 652 PW não demonstra diferença significativa dos tratamentos com o fungicida e com a testemunha sem aplicação. No entanto, para o híbrido MG 30A95 HX, o tratamento com cinco aplicações demonstra diferença significativa com o fungicida com valor menor de AACPD e melhor controle, sendo que, para os demais tratamentos, não ocorre diferença significativa entre eles e fungicida e testemunha sem aplicação.

Em sete situações (mancha ocular, mancha de cercospora e mancha branca para ambos os híbridos, MG 652 PW e MG 30A95 HX, também para mancha de helmintosporiose para o híbrido MG 30A95 HX), pode-se verificar a redução da AACPD com relação ao fungicida em decorrência de cinco aplicações do biofertilizante, evidenciando o efeito do produto, diminuindo a severidade das doenças foliares de milho. Do mesmo modo, Rosa et al. (2007) e Gomes et al. (2009), pesquisando o efeito do Agro-Mos (mananooligossacarídeo da parede celular de *Sacharomyces cereviseae*) nas doenças foliares, verificaram que o produto reduziu a incidência de míldio (*Plasmopara viticula*) e oídio (*Uncinula nector*) da videira.

O biofertilizante Agrobio, igualmente, demonstrou redução da mancha bacteriana em pimentão, possivelmente por indução de resistência (DELEITO, 2005). Também Bernardo e Bettiol (2010) relataram o uso de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, leite (5%) e biofertilizante da indústria Microbiol (Microgeo®), a 3% como testemunha, no controle da pinta preta dos frutos cítricos em cultivo orgânico (*Guignardia citricarpa* Kiely). Esses pesquisadores constataram que o biofertilizante apresentou índice de doença estatisticamente diferente dos demais, demonstrando controle da doença. Estes produtos podem ser úteis na condução das lavouras de milho, especialmente em sistema orgânico, adequando época e frequência das pulverizações, pois são produtos de contato e de baixa persistência no ambiente.

De acordo com Barbosa e Medeiros (2007), os biofertilizantes são constituídos por substâncias indutoras de resistência sistêmica induzida e resistência sistêmica adquirida e também por outros semioquímicos que funcionam sinergicamente, aprimorando o sistema de autodefesa da planta, principalmente, as fitoalexinas. Pesquisando a atuação do biofertilizante no controle de doenças fúngicas, Faldoni (2011) avaliou o efeito no desenvolvimento de portaenxerto de citros induzindo a resistência à gomose causada por *Phytophthora parasítica*.

Este produto, fermentado à base de capim-limão, o biofertilizante, demonstra potencial para o controle das doenças foliares do milho devido ao seu efeito de indutor do sistema de defesa nas folhas das plantas, pois diminui a ocorrência das doenças. Desta forma, possivelmente, poderá ser utilizado para manejo das doenças no sistema agroecológico, produzindo espigas de milho livres de agrotóxicos.

Tabela 10. Área abaixo da curva do progresso da doença - AACPD de mancha ocular (*Kabatiella zeae*), ferrugem (*Puccinia sorghi*), mancha de *Cercospora (Cercospora zeae-maydis*), mancha branca (*Pantoea ananatis*, *Phaeosphaeria maydis*) e mancha de helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*) de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante em comparação com a testemunha fungicida, no campo, Mandaguari, PR, 2015

Aplicações de biofertilizante	Mancha ocular*		Ferrugem*		M. Cercospora *		Mancha branca*		M. helmintosporiose*	
Aplicações de biolettiizante	MG 652 PW	MG 30A95	MG 652 PW	MG 30A95	MG 652 PW	MG 30A95	MG 652 PW	MG 30A95	MG 652 PW	MG 30A95
Testemunha sem aplicações	36,51bA ns	47,66aA ns	3,93aA ns	5,95aA ns	6,41aA ns	26,03bB ns	23,34aA ns	35,50bA ns	12,05aA ns	14,76aA ns
2,0 L./ha no R1	38,91bA ns	42,68aA ns	4,88aA ns	7,49aA ns	8,00aA ns	18,34bB ⁻	11,35aA ns	33,97bB ⁻	4,79aA ns	13,48aA ns
2,0 L./ha V10 e R1	40,40bA ns	45,99aA ns	6,25aA ns	8,92aA ns	6,53aA ns	15,51bB ⁻	18,43aA ns	35,43bB ⁻	6,80aA ns	9,67aA ns
2,0 L./ha V10, R1 e 15 dias após	38,04bA ns	46,24aA ns	4,81aA ns	9,20aA ns	3,34aA ns	14,57bB ⁻	13,17aA ns	47,49bB ns	1,98aA ns	24,74aA ns
2,0 L./ha V10, R1, 15, 30 dias após	36,38bA ns	39,69aA ns	8,22aA ns	13,29aA +	4,70aA ns	20,87bB ns	12,39aA ns	51,30bB ns	2,86aA ns	12,94aA ns
2,0 L./ha no estágio V10, no R1, 15,	24,81aA -	32,10aA -	4.50aA ns	7.93aA ns	0.85aA ⁻	0.69aA ⁻	5.10aA ⁻	13,88aA ⁻	0,48aA ns	1,61aA ⁻
30, 45 dias após	24,01aA	32,10aA	4,50aA	7,93aA	0,03aA	0,09aA	3,10aA	15,00aA	0,40aA	1,01aA
Fungicida **	39,18	47,51	4,2	6,55	7,79	30,89	20,59	54,24	2,79	14,2
CV(%)	14,53	7,38	22,62	28,28	24,94	27,97	23,90	20,57	59,16	39,25

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de grupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

ns: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD; : as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores à testemunha fungicida, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.+: as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são superiores às testemunhas, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*}Dados originais apresentados para análise estatística foram transformados em $\sqrt{(y+1,0)}$.

^{**} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-1 e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

3.2.2 Índice de clorofila SPAD e NDVI

No experimento de 2015, analisando os valores do índice SPAD para os tratamentos com diferente número de aplicações de biofertilizante, o híbrido MG 652 PW não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 11). No entanto, para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos testemunha sem aplicação, com três e quatro aplicações, demonstraram valores maiores que os demais. Quando comparamos os dois híbridos entre si, pode ser observado que os tratamentos testemunha sem aplicação e com cinco aplicações não apresentam diferença significativa entre eles, porém os tratamentos com uma, duas, três e quatro aplicações de biofertilizante no híbrido MG 30A95 HX apresentam valores menores de índice SPAD que os tratamentos do híbrido MG 652 PW. Possivelmente, o biofertilizante para os tratamentos com valores menores estatisticamente do índice SPAD produziram um efeito fisiológico nas plantas, causando menor produção de clorofila, que foi avaliado pelo clorofilômetro. O teor de clorofila está ligado diretamente à disponibilidade de nitrogênio na planta e à produção de aminoácidos e proteínas com repercussão em toda a fisiologia da planta. A ocorrência de doenças foliares nas plantas de milho possivelmente provocou um gasto energético diferenciado nos tecidos do limbo foliar causando diferença nos teores de clorofila. Seria desejável que a estratificação dos tratamentos apontasse para um efeito nutritivo, no entanto, esse resultado não ocorreu.

Quando foram comparados os tratamentos do biofertilizante com o fungicida padrão, verificou-se que não ocorre diferença significativa entre os tratamentos, exceto para o tratamento com cinco aplicações no híbrido MG 652 PW, que apresenta valor menor que o fungicida e os demais tratamentos (Tabela 17). Este evento supostamente ocorre devido a fatores casuais alheios aos tratamentos aplicados. Os dados apresentados, de uma forma geral, nos tratamentos com biofertilizante, não demonstram diferença significativa com a testemunha sem aplicação, podendo inferir que não influenciaram no teor de clorofila das plantas. Provavelmente, o biofertilizante, nas doses aplicadas, não demonstrou efeito nutritivo nas plantas suficiente para influenciar o teor de clorofila nas folhas. Fonseca et al. (2012), pesquisando o uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila em híbridos de milho (*Zea mays* L.) Bt e isogênico, verificaram, pelos resultados obtidos, que o híbrido não Bt aos 68 DAE (VT) para o terço superior e terço médio das folhas teve maior índice de clorofila. Aos 82 DAE (R4), houve diferença significativa para o Bt, podendo inferir em maior peso de grãos, visto que a parte superior se encontra mais fotossinteticamente ativa.

Para o índice de vegetação NDVI, no experimento de 2015, não ocorre diferença

significativa entre os tratamentos e nem entre híbridos (Tabela 11). Quando comparados com a testemunha fungicida, também não demonstra diferença significativa. De acordo com os dados apurados, os índices de vegetação por diferença normalizada não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos de biofertilizante aplicados. Provavelmente, nas doses aplicadas, os teores de nutrientes na planta não foram alterados com a aplicação dos tratamentos.

Povh et al. (2008), estudando o comportamento do NDVI obtido por sensor ótico ativo em cereais, observaram que o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI), medido pelo sensor ótico ativo, apresenta alto potencial para manejo do N nas culturas do trigo, triticale e cevada, além de baixo potencial para a cultura do milho. Consequentemente, por apresentar baixo potencial para manejo de N na cultura do milho, o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI), de forma semelhante nesse ensaio de milho, não possibilitou identificar diferenças significativas.

Tabela 11. Índice SPAD e NDVI de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2015

Doses de biofertilizante	S	PAD	NDVI		
Doses de biolertilizante	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX	
Testemunha sem aplicação	56,10aA ns	55,15aA ns	0,46aA ns	0,51aA ns	
2,0 L./ha no R1	57,72aA ns	52,09bB ns	0,49aA ns	0,51aA ns	
2,0 L./ha V10 e R1	57,01aA ns	53,62bB ns	0,49aA ns	0,52aA ns	
2,0 L./ha V10, R1 e 15 dias após	57,53aA ns	55,09aB ns	0,47aA ns	0,49aA ns	
2,0 L./ha V10, R1, 15, 30 dias após	57,42aA ns	54,62aB ns	0,47aA ns	0,50aA ns	
2,0 L./ha no estágio V10, no R1, 15, 30, 45 dias após	54,50aA ⁻	52,64bA ns	0,47aA ns	0,51aA ns	
Fungicida *	56,93	53,83	0,48	0,5	
CV(%)	3,22	2,72	6,09	6,25	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

3.2.3 Avaliações das características agronômicas e componentes de rendimento

3.2.3.1 Características agronômicas altura das plantas e prolificidade

Na safra de 2015, para altura de plantas, verificou-se que os tratamentos de número e

ns: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD; : as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores às testemunhas, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

épocas de aplicação de biofertilizante para ambos os híbridos não demonstraram diferença estatisticamente significativa (Tabela 12). Quando comparados os híbridos entre si, verificouse que as plantas do híbrido MG 652 PW, nos tratamentos com uma, duas, três e cinco aplicações demonstraram diferença significativa, apresentando altura menor. Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa entre os híbridos. Comparando os tratamentos com a testemunha absoluta fungicida, não foram observadas diferenças significativas.

Possivelmente, as características intrínsecas, relacionadas ao fator genético, foram preponderantes para a determinação da altura de plantas, atuando com maior intensidade e com maior influência no crescimento. Plantas de altura menor e arquitetura com folhas eretas são mais desejáveis para otimizar a produção das lavouras, devido a sua maior capacidade de capturar a radiação solar. Pereira et al. (2009) encontraram valor médio de 168,33 cm para altura de plantas, mas os valores superiores a 166,53 cm não diferiram entre si. Zarate e Vieira (2003) relataram para o cultivar Superdoce a altura média de plantas de 2,28 metros, semelhante aos valores encontrados neste trabalho.

Para a variável prolificidade, constatou-se que, para o híbrido MG 652 PW, os tratamentos testemunha sem aplicação, uma e quatro aplicações apresentam valores significativamente maiores que os demais (Tabela 12). Para o híbrido MG 30A95 HX, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos, porém, quando comparados os híbridos entre si, verificou-se que os tratamentos com uma e quatro aplicações de 2,0 L ha⁻¹ de biofertilizante apresentaram valores significativamente menores que do híbrido MG 652 PW e para os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa entre os híbridos.

Quando comparados os tratamentos com a testemunha fungicida, ficou constatado que, para o híbrido MG 652 PW, os tratamentos com duas, três e cinco aplicações de biofertilizante demonstraram valores significativamente menores que o fungicida. Para o híbrido MG 30A95 HX, os tratamentos com duas, três e quatro aplicações de biofertilizante demonstraram valores significativamente menores que o fungicida, os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa. Os tratamentos com o biofertilizante, de uma forma geral, não interferiram na prolificidade das plantas, não acrescentaram a segunda espiga nas plantas de milho. Possivelmente, o fator genético, aliado à nutrição da planta e à captação da radiação solar, foi preponderante sobre os tratamentos aplicados, não sendo estes influenciadores desse fenômeno. Pesquisando caracteres agronômicos e nutricionais de genótipos de milho doce, Pereira et al. (2009) detectaram entre os materiais avaliados alta variabilidade para a prolificidade, variando de 1,11 a 2,03. Os autores sugeriram que o

aumento da prolificidade trariam um acréscimo na produção do milho, pois quanto menos prolífico maior a possibilidade de conseguir espigas maiores, o que é desejável, pois oferece maior oportunidade de alcançar melhores rendimentos.

Tabela 12 - Resultados médios da altura de plantas e prolificidade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2015

Dagas da hiafastilinasta	Altura de	e plantas (m)	Prolificidade		
Doses de biofertilizante	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX	
Testemunha sem aplicação	2,28aA ns	2,33aA ns	1,30aA ns	1,10aA ns	
2,0 L./ha no R1	2,25aB ns	2,37aA ns	1,45aA ns	1,05aB ns	
2,0 L./ha V10 e R1	2,24aB ns	2,34aA ns	1,10bA -	1,00aA -	
2,0 L./ha V10, R1 e 15 dias após	2,21aB ns	2,34aA ns	1,05bA -	1,00aA -	
2,0 L./ha V10, R1, 15, 30 dias após	2,26aA ns	2,31aA ns	1,25aA ns	1,00aB -	
2,0 L./ha no estágio V10, no R1, 15, 30, 45 dias após	2,25aB ns	2,34aA ns	1,10bA ⁻	1,10aA ns	
Fungicida *	2,24	2,33	1,4	1,25	
CV(%)	0,25	2,15	15,11	13,67	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

3.2.3.2 Componentes de rendimento massa de mil grãos e produtividade

Analisando a massa de mil grãos dos híbridos em 2015, observou-se que ambos os híbridos não apresentam diferença significativa entre os tratamentos, mas, quando comparados entre si, demonstram que todos os valores do híbrido MG 652 PW são significativamente maiores que os do híbrido MG 30A95 HX (Tabela 20), possivelmente devido a fatores genéticos que confere essas características aos híbridos em estudo. Comparando os valores dos tratamentos com o fungicida, a testemunha absoluta, verificou-se que não houve diferença significativa para ambos os híbridos (Tabela 21). Os efeitos dos tratamentos não afetaram nutritivamente e nem o balanço energético das plantas, devido ao efeito de controle das doenças. Desta forma, os tratamentos não interferiram na massa de mil grãos, que normalmente tem correlação com a produtividade.

Pesquisando o controle de doenças com o uso de fungicida no milho segunda safra em Cascavel-PR, Swartz e Marchioro (2009) constataram que a aplicação dos produtos

ns: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD; : as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores à testemunha fungicida, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® ĤC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

influenciou significativamente o aumento de produtividade e o incremento na massa de mil grãos. No entanto, o híbrido avaliado como sendo o mais produtivo, frequentemente, não expressa o maior valor de massa de mil grãos, pois pode ocorrer variação no número de grãos nas espigas de cada planta.

Tabela 13. Resultados médios da massa de mil grãos e da produtividade de híbridos de milho sob a aplicação de doses de biofertilizante, em comparação com a testemunha fungicida, Mandaguari, PR, 2015

Doses de biofertilizante	Massa de mil grãos (g)		Produtividade (kg.ha ⁻¹)	
	MG 652 PW	MG 30A95 HX	MG 652 PW	MG 30A95 HX
Testemunha sem aplicações;	340,56aA ns	$304,74aB$ $^{\mathrm{ns}}$	7158,26aA ns	6850,22aA ns
2,0 L./ha no estágio de R1	342,39aA ns	291,68aB ns	6994,13aA ⁻	7123,76aA ns
2,0 L./ha no estádio V10 e R1	349,09aA ns	286,12aB ns	7184,82aA ns	7132,70aA ^{ns}
2,0 L./ha no estádio V10, R1 e 15 dias após;	340,94aA ns	281,98aB ns	6898,91aA ⁻	7000,11aA ns
2,0 L./ha no estádio V10, R1, 15 e 30 dias após;	336,68aA ns	277,43aB ns	7176,08aA ns	7119,85aAns
2,0 L./ha no estádio V10, R1, 15, 30, 45 dias após;	347,58aA ns	292,72aB $^{\rm ns}$	6920,07aA ⁻	6852,80aAns
Fungicida *	347,43	290,34	7461.70	7004.24
CV(%)	7,10	6,43	7,62	5,69

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott e teste F, respectivamente, a 5% de probabilidade.

Estudando os dados de produtividade, constatou-se que não ocorreu nenhuma diferença significativa entre os tratamentos e tão pouco entre os híbridos (Tabela 20). Entretanto, na comparação dos tratamentos de biofertilizante com o fungicida, para o híbrido MG 652 PW, verificou-se que os tratamentos com uma, três e cinco aplicações apresentaram valores menores que o fungicida (Tabela 21). Para o híbrido MG 30A95 HX não houve diferença significativa entre os demais tratamentos. O momento no qual a doença se manifesta na cultura é importante, pois, de acordo com Brandão et al. (2003), quando a doença ocorre no final do ciclo da cultura não causam redução significativa na produção. Brito et al. (2007) avaliaram as lesões causadas pela cercosporiose na região sul de Minas Gerais, encontrando índices que variaram de 16 a 27%, para híbridos susceptíveis à doença. Deduziram que os níveis de danos causados variam conforme as épocas de plantio e entre os híbridos, com diferentes níveis de resistência analisados.

A variável produtividade é influenciada por vários fatores no desenvolvimento da cultura do milho, sendo que o manejo das doenças interfere nos resultados na medida em que

ns: não significativo, a 5% de probabilidade, as médias dos tratamentos do fatorial não diferem em relação à testemunha fungicida, pelo teste LSD; : as médias dos tratamentos do fatorial diferem e são inferiores à testemunha fungicida, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste LSD.

^{*} Epoxiconazol 160 g L⁻¹ + piraclostrobina 260 g L⁻¹ (Abacus® HC), 0,3 L ha-¹ e adjuvante óleo mineral Dash HC® 0,5% (v:v).

ocorrem as interações entre o patógeno, o hospedeiro em condições do clima propício, para o desenvolvimento das doenças, com muitas chuvas, orvalho com água livre na folha. Em situações muito favoráveis para a doença ocorrem as lesões dos patógenos. Nessas ocasiões uma epidemia pode se estabelecer causando muitas perdas. De outro modo, conforme as condições climáticas de baixa umidade e pouca água livre na folha, as lesões das doenças são reduzidas não interferindo, de forma geral, na produtividade dos tratamentos. Provavelmente essa interação impediu a ocorrência de contrastes nos tratamentos sem apresentar valores com diferenças significativos tanto para produtividade como para massa de mil grãos.

4 CONCLUSÕES

O biofertilizante à base de capim limão (*C. citratus*), mesmo em condições de baixa severidade das doenças, na dose de 2,0 L.ha⁻¹ aplicado cinco vezes, com intervalo de 15 dias, reduziu a AACPD de doenças foliares do milho: mancha de cercospora, mancha ocular e mancha branca. Para ferrugem e mancha de helmintosporiose não houve diferença estatística significativa.

O índice SPAD apresentou resultado diferenciado nos dois anos. No primeiro ano não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, porém, no segundo ano, demonstrou diferença significativa, apresentando valores maiores em tratamentos com biofertilizante.

O índice NDVI não apresentou diferença significativa entre os tratamentos nos dois anos de cultivo, com exceção para o tratamento com 8,0 L.ha⁻¹ de biofertilizante.

A variável altura de plantas apresentou diferença significativa apenas no primeiro ano e para o híbrido MG 652 PW. Nas demais avaliações não houve diferenças significativas.

Para prolificidade, houve diferença significativa entre os tratamentos quando utilizado doses repetidas de biofertilizante.

O biofertilizante estudado não apresentou interferência nos valores da massa de mil grãos e da produtividade.

Dentre os tratamentos com biofertilizante, a aplicação sequencial com cinco pulverizações mostrou-se mais promissora para o controle das doenças foliares do milho.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ocorrência de uma doença tem início pelo aparecimento do patógeno, na presença do hospedeiro suscetível e das condições climáticas favoráveis, sendo que a garantia das infecções ou epidemias nem sempre ocorrem pela presença das plantas suscetíveis e pelo patógeno virulento, pois a influência do ambiente no desenvolvimento da doença é determinante.

O controle de doenças de plantas cultivadas tem preocupado excessivamente os agricultores e a pesquisa diante das epidemias ocorridas no campo. A escolha de métodos e técnicas alternativas para o manejo das doenças, com o propósito de reduzir os impactos financeiros que os fitopatógenos produzem no campo, vem crescendo. Diante das várias possibilidades que podem ser adotadas, o uso dos biofertilizantes como indutores de resistência vem passo a passo ganhando espaço na agricultura brasileira, pois reduz o emprego de agrotóxicos e atenua os impactos ambientais.

O biofertilizante, como um produto natural, proveniente da fermentação de materiais orgânicos, está adequado para o controle alternativo de pragas e doenças. No experimento em casa de vegetação, o biofertilizante à base de capim limão, aplicado nos tratamento, foi armazenado por 11 meses e 25 dias, na temperatura de 8,0 °C. Os resultados foram satisfatórios, no entanto, o período ideal de armazenamento ainda é desconhecido. Dessa forma, uma possibilidade de pesquisa se abre para investigar essa questão, com os objetivos de conhecer a sua eficácia ao longo do tempo, o que poderá auxiliar os agricultores na utilização desse produto.

As medidas de controle das doenças foliares das plantas cultivadas com produtos naturais devem estar associadas à escolha de biótipos, híbridos ou variedades, com características genéticas apropriadas para otimizar o manejo.

No experimento em casa de vegetação, foi utilizado o adjuvante LI 700® a 0,3%, compatível com a agricultura orgânica, que, pelas suas características de quebrar a tensão da gota de água, atuou como agente espalhante e molhante na superfície da folha da planta de milho, contribuindo para os resultados obtidos. Recomenda-se que novos trabalhos de pesquisa com biofertilizantes a adição de adjuvante na calda de aplicação e o estudo dessa associação sejam realizados.

Diante dos resultados alcançados, pode-se ponderar sobre o melhor período de armazenamento, a suscetibilidade do híbrido estudado, ou ainda a utilização de adjuvantes de

calda, para a melhor distribuição do produto na folha das plantas e controle das doenças foliares. Emfim, estudos complementares são imprescindíveis, com o objetivo de esclarecer o efeito do biofertilizante nas suas particularidades e seus possíveis benefícios às plantas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACTION STAT. **Testes de comparações múltiplas: Teste de Fisher (ou LSD).** Disponível em: http://www.portalaction.com.br/anova/32-teste-de-fisher. Acesso em: 15, janeiro, 2018.

AGRIOS, G.N. Plant pathology. Burlington: Elsevier Academic, 2005. 922p.

ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. Modern corn production. 2. ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371p.

ALMEIDA, M.L.; MEROTTO JÚNIOR, A.; SANGOI, L.; ENDER, M.; GUIDOLIN, A. F. Incremento na densidade de plantas: uma alternativa para aumentar o rendimento de grãos de milho em regiões de curta estação estival de crescimento. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 23-29, 2000.

AMARANTE, C.V.T.; STEFENS, C.A.; SANGOL, L.; ZANARDI, O.Z.; MIQUELOTO SCHWEITZER, C. Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo,** v. 9, n. 1, p. 39-50, 2010.

AMARANTE, C.V.T.; ZANARDI, O.Z.; MIQUELOTO, A.; STEFFENS, C.A.; ERHART, J.; ALMEIDA, J.A. Quantificação da área e do teor de clorofilas em folhas de plantas jovens de videira 'Cabernet Sauvignon' mediante métodos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 680-686, 2009.

AMARANTE, C.V.T.; STEFFENS, C.A.; ZANARDI, O.Z.; ALVES, E.O. Quantificação de clorofilas em folhas de macieiras 'Royal Gala' e 'Fuji' com métodos ópticos não-destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura,** v. 30, p. 590-595, 2008.

ARGENTA, G. Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 109-119, 2003.

BARROS, R. Aplicação foliar de fungicidas químicos na cultura do milho segunda safra. In: Tecnologia e produção: milho segunda safra e culturas de inverno. Maracaju: Fundação MS, 2008. p. 71-77.

BARROS, R. Estudos sobre a aplicação foliar de acibenzolar-S-metil para indução de resistência à ferrugem asiática em soja e cercosporiose em milho. **Arq. Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 519-528, out./dez., 2011.

BEDENDO, I.P.; AMORIM, L. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; RESENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A (eds.). **Manual de fitopatologia.** Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 133-147.

BERNARDO, E.R.A.; BETTIOL, W. Controle da pinta preta dos frutos cítricos em cultivo orgânico com agentes de biocontrole e produtos alternativos. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, 037-042, 2010.

BORTOLINI, A.M.M.; GHELLER, J.A. Aplicação de diferentes fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho em relação à produtividade. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 1, p. 109 - 121, 2012.

BRANDÃO, A.M.; JULIATTI, F.C.; BRITO, C.H.; GOMES, L.S.; VALE, F.X.R.; HAMAWAKI, O.T. Fungicidas e épocas de aplicação no controle de ferrugem comum (*Puccinia sorghi* Schw) em diferentes híbridos de milho. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 1, p. 43-52, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G.; POZZA, E.A.; PEREIRA, J.L.A.R.; FARIA FILHO, E.M. Efeito da Cercosporiose no rendimento de híbridos comerciais de milho. **Fitopatologia Brasileira**, n. 32, v. 1, p. 32-36. 2007.

BUCK, J.W. *In vitro* antagonism of *Botrytis cinerea* by phylloplane yeasts. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, p. 885-891, 2002.

BULHÕES, C.C.; SANTOS, B.T.; BONALDO, S.M.; BAGGIO, L.G.; TRENTO, R.A. Potencial de biofertilizante alternativo (BIOFORM II) na produtividade e no controle de doenças em feijoeiro no norte de Mato Grosso. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 2012, Viçosa. **Anais...** Viçosa: FERTBIO, 2012 p. 1-4. (CDROOM).

CAMOCHENA, R.C.; SANTOS, I.; MAZARO, S.M. Escala diagramática para avaliação da severidade da Mancha Ocular em milho causada por *Kabatiella zeae*, **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2124-2131, nov, 2008.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: **John Wiley & Sons**, 1990. 532p.

CANTERI, M.G.; NASCIMENTO, M.A.; ANDRADE, E.C.; ALTHAUS, R.A.; FURSTENBERGER, A.L.F.; PRIA, M.D. Software para auxiliar em estimativas de severidade de doenças de milho. In: CONGRESSO E MOSTRA DE AGROINFORMÁTICA, 99, Campinas-SP. **Anais...** Campinas: Embrapa, 1999. p. 18-24.

CARDOSO, A.D.; ALVARENGA, M.A.R.; MELO, T.L.; SILVEIRA VIANA, A.E.; MATSUMOTO, S.N. Índice SPAD no limbo foliar da batateira sob parcelamento e doses de nitrogênio e potássio. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n.1, p. 159-167. 2011.

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S.; PINTO, N.F.J.A. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa. 2006. (Circular 83).

CAVALCANTE, L.F.; DIAS, T.J.; NASCIMENTO, R.; FREIRE, J.L.O. Clorofila e carotenóides em maracujazeiro-amarelo irrigado com águas salinas no solo com biofertilizante bovino. **Revista Brasielira de Fruticultura**, Volume Especial, E. p. 699-705, 2011.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos:** a teoria da trofobiose. 2. ed. Porto Alegre: L e PM, 1987. 256p.

COLARES, M.R.N.; BONALDO, S.M.; RIBEIRO, A.S. Biofertilizante alternativo no controle de doenças em feijão no norte do Estado do Mato Grosso. In. Sociedade Brasielira de Fitopatologia, 46, 2013, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: 2013. p. 417-2.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos safra 2016/2017: décimo primeiro levantamento, agosto 2017. Brasília, 2017. 162p.

CORDEIRO, J.P.; CÂMARA, G.; MOURA, U.F.; BARBOSA, C.C.; ALMEIDA, F. Algebraic Formalism over Maps. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE GEOINFORMÁTICA, 7. (GEOINFO), 2005, Campos do Jordão. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2005. p. 49-65.

COTA, L.V.; COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; SILVA, D.D. **Desenvolvimento de Metodologia para Avaliação da Mancha Branca do Milho**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I. **Cultivo do milho**: cultivares. 5. ed. Sete lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 79p.

CRUZ, J.C.; SILVA, G.H.; PEREIRA FILHO, I.A.; GONTIJO NETO, M.M.S.; MAGALHÃES, P.C. Caracterização do cultivo de milho segunda safra de alta produtividade em 2008 e 2009. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, n. 2, p. 177- 188, 2010.

DALMOLIN, A.; PASTORELLO, M.; RIBEIRO, A.S.; BONALDO, S. M.; ECCO, M. E.dos Bioform I como alternativa para o controle de *Rhizoctonia* sp. *in vitro*. In: V SIMPÓSIO DA AMAZÔNIA MERIDIONAL EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, 2012, Sinop/MT. **Anais...** SINOP/MT: PROMOTORA DO EVENTO, 2012a.

DALMOLIN, A.; RIBEIRO, A.S.; BONALDO, S.M.; ECCO, M.E.; PASTORELLO, M. Potencial de Bioform II no controle *in vitro* de *Rhizoctonia* sp. In: V SIMPÓSIO DA AMAZÔNIA MERIDIONAL EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, 2012, Sinop/MT. **Anais...** SINOP/MT: UFRGS, 2012b. p. 391-395.

DE BOES, J.L. The management time economics of on-the-go sensing for nitrogen application. Disponível em: https://www.agriculture.purdue.edu/ssmc/Frames/ 2004. Acesso em: 20, out., 2016.

DELEITO, C.S.R.; CARMO, M.G.F.; FERNANDES, M.C.A.; ABBOUD, A.C.S. Ação bacteriostática do biofertilizante Agrobio *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.2, p.281-284, 2005.

DELEITO, C.S.R.; et al. Ação bacteriostática do biofertilizante Agrobio *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, abr.-jun, 2005.

DUARTE, A.P.; GERAGE, A.C.; CECCON, G.; SILVA, V.A.; CRUZ, J.C.; BIANCO, R.; SOUZA, E.D.; PEREIRA, F.C.; SOARES FILHO, R. Milho Safrinha. In. CRUZ, J.C.; MAGALHÃES, P.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; MOREIRA, J.A.A. **Milho**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p. 306-324.

DUARTE, J.O. **Introdução e importância econômica do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 67p.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 353p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 21-54.

FANCELLI, A.L. **Plantas Alimentícias:** guia para aula, estudos e discussão. CentroAcadêmico "Luiz de Queiroz". São Paulo: ESALQ/USP, 1986. 131p.

FANTIN, G.M.; FURLAN, S.H. Resistência de fungos a fungicidas e manejo de doenças na cultura do milho. In: PARTENIANI, M.E.A.G.Z.; DUARTE, A.P.; TSUNECHIRO, A. (eds.). **Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos**. Campinas: ABMS/IAC, 2012. p. 421-452.

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2000. 80p. (Circular Técnica, 26).

FONSECA, P.R.B.; FERNADES, M.G.; DUTRA, F.; SOUZA, T.A.; PONTIM, B.C.A. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foiares de clorofila, em híbridos de milho (*Zea mays* L.) Bt e isogênico. **Revista Verde,** v. 7, n.1, p. 56-60, 2012.

GODOY, L.J.G.; SANTOS, T.S.; VILLAS BÔAS, R.L.; JÚNIOR, J.B.L. Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em Nitrogênio durante o ciclo de cafeeiro fertirrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 217-226, 2008.

GOES, R.H.T.B.; SILVA, L.H.X.; SOUZA, K.A. **Alimentos e alimentação animal**. Dourados: Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD, 2013. 79p.

GOMES, E.C.S.; PEREZ, J.O.; BARBOSA, J. Resistência induzida como componente do manejo de doenças da videira. **Engenharia Ambiental**, v. 6, n.2, p.114-120, 2009.

GONÇALVES, M.E.M.P.; GONÇALVES JÚNIOR, D.; SILVA, A.G.; CAMPOS, H.D.; SIMON, G.A.; SANTOS, C.J.L.; SOUSA, M.A. Viabilidade do controle químico de doenças foliares em híbridos de milho no plantio de segunda safra. **Nucleus**, v. 9, n.1, p. 49-62, 2012.

GROHS, D.S.; BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M.; POLETTO, N. Modelo para estimativa do potencial de produtivo em trigo e cevada por meio do sensor Greenseeker, **Engenharia Agrícola**, v. 29, n.1, p. 101-112, jan/mar, 2009.

HURTADO, S.M.C.; RESENDE, A.V.; SILVA, C.A.; CORAZZA, E.J.; SHIRATSUCHI, L.S. Variação espacial da resposta do milho à adubação nitrogenada de cobertura em lavoura no cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p.300-309, 2009.

JESUS JUNIOR, W.C.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; VALE, F.X.R.; HAU, B. Sistemas de auxílio à tomada de decisão no manejo de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 11, p.133-193, 2003.

JUIATTI, F.C.; APPELT, C.C.N.S.; BRITO, C.H.; GOMES, L.S.; BRANDÃO, A.M.; HMAWAKI, O.T.; MELO, B. Controle da feosféria, ferrugem comum e cercosporiose pelo uso da resistência genética, fungicidas e épocas de aplicação na cultura do milho. **Bioscience Journal**, 2004.

KAPPES, C.; CARVALHO, M.A.C.; YAMASHITA, O.M.; SILVA, J.A.N. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 3, p. 251-259, 2009.

KUPPER, K.C.; BELLOTTE, J.A.M.; GOES, A. Controle alternative de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da quedra prematura dos frutos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 1004-1015, 2009.

LAGO, F.L.; NUNES, J. Avaliação da produtividade de milho em relação à aplicação de fungicidas em diferentes estádios. **Revista Cultivando o Saber**, v. 1, n. 1, p. 17-23, 2008.

LAZAROTO, A.; SANTOS, I.; KONFLANZ, V.A.; MALAGI, G.; CAMOCHENA, R.C. Escala diagramática para avaliação de severidade da helmintosporiose comum em milho, da

helmintosporiose comum em milho. Ciência Rural, v. 42, n. 12, dez, 2012.

LIU, W.T.H. Aplicações de sensoriamento remoto. Campo Grande: UNIDERP, 2006. 908p.

MADDONNI, G.A.; CHELLE, M.; DROUET, J.L.; ANDRIEU, B. Light interception of contrasting azimuth canopies under square and rectangular plant spatial distributions: simulations and crop measurements. **Field Crops Research**, v. 70, p. 1-13, 2001.

MARKWELL, J.; OSTERMAN, J.C.; MITCHELL, J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 467- 472, 1995.

MASSOLA JUNIOR, N.S.; BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; LOPES, J.R.S. Quantificação de danos causados pelo enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho em condições de campo. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 136-142, 1999.

McDONALD, A.E.; GRANT, B.R.; PLAXTON, W.C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 1505-1519, 2001.

MEDEIROS, D.C.; LIMA, B.A.B.; BARBOSA, M.R.; ANJOS, R.S.B.; BORGES, R.D.; CAVALCANTE NETO, J.G.; MARQUES, L.F. Produção de mudas de alface com biofertilizantes e substratos. **Horticultura brasileira**, v. 25, n. 3, 433-436, 2007.

MOGE, S.M.; RAUN, W.R.; MULLEN, R.W.; FREEMAN, K.W.; JOHNSON, G.V.; SOLIE, J.B. Evaluation of green, red, and near infrared bands for predicting winter wheat biomass, nitrogen uptake, and final grain yield, **Journal of Plant Nutrition**, v. 27, n. 8, p. 1. 431-1.441, 2004.

NTECH INDUSTRIES. **Greenseeker Manuals.** Disponível em: HTTP://ntechindustries. com/greenseeker-manual html. Acesso em: 03, agosto, 2016.

PALHANO, L.F.; VILCHES, T.T.; SANTOS, R.B.; ORLANDO, M.T.; VENTURA, J.A.; FERNANDES, P.M. Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, n.1, p. 61-6, 2004.

PEREIRA, A.F.; MELO, P.G.S.; PEREIRA, J.M.; ASSUNÇÃO, A.; NASCIMENTO, A.R.; XIMENES, P.A. Caracteres agronômicos e nutricionais de genótipos de milho doce. **Jornal**

de Biosciência, v. 25, n. 1, p. 104-112, 2009.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S.B. "MB-4": **Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes.** Canoas: Gráfica La Solle, 1996. 273p.

PINTO, N.F.J.A.; OLIVEIRA, E.; FERNANDES, F.T. Manejo das principais doenças do milho. EMBRAPA-CNPMS, 2007. 16p. (Circular Técnica, 92).

PORTO, M.L. et al. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura da abobrinha. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 311-315, 2011.

POVH, F.P.; MOLIN, J.P.; GIMENEZ, L.M.; PAULETTI, V.; MOLIN, R.; SALVI, J.V. Comportamento do NDVI obtido por sensor ótico ativo em cereais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 8, p.1075-1083, 2008.

PRADO, R.M.; VALE, D.W. Nitrogênio, fósforo e potássio na leitura SPAD em porta-enxerto de limoeiro cravo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, p. 227-232, 2008.

REIS, A.R.; FURLANI JUNIOR, E.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. **Bragantia**, v. 65, n.1, p. 163-171, 2006.

ROSA, R.C.T.; COELHO, R.S.B.; TAVARES, S.C.C.H.; CAVALCANTI, V.A.L.B. Efeito de indutores no controle de míldio em *Vitis labrusca*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p.68-73, 2007.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio para a cultura do milho num solo com alto teor de matéria orgânica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 13-24, 1994.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; GRACIETTI, M.A.; BIANCHET, P. Sustentabilidade do colmo em híbridos de milho de diferentes épocas de cultivo em função da densidade de plantas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 1, n. 2, p. 60-66, 2002.

SANTOS, B.T.; BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Óleos essenciais de espécies florestais e medicinais no controle de ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) em algodão. Cadernos de Agroecologia. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA. **Anais...** Lavras: UFL, 2004. p. 43.

SEIXAS. J.; FOLLE, S.; MACHETTI, D. Construção e funcionamento de biodigestores. Brasília: EMBRAPA – DID, 2011. (Circular Técnica, 4).

SHIOGA, P.S.; GERAGE, A.C.; ARAÚJO, P.M.; BIANCO, R. Avaliação estadual de cultivares de milho segunda safra 2012. Londrina: IAPAR, 2012. 114p. (Boletim Técnico 78).

SOUZA, D.C.T.; FERNANDES, S.; KAVASAKI, K.; COSTA, M.A.; BRONHOLI C.; BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., TRENTO, R.A. Bioform I: controle *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal do mofo branco. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p.118-118, 2011.

SWARTZ, E.; MARCHIORO, V.S. Controle de doenças com fungicida em milho segunda safra. **Cultivando o Saber,** v. 2, n.1, p. 38-45, 2009.

TECCHIO, M.A.; MOURA, M.F.; PAIOLI-PIRES, E.J.; TERRA, M.M.; TEIXEIRA, L.A.J., Smarsi, R.C. Teores foliares de nutrientes, índice relativo de clorofila e teores de nitrato e de potássio na seiva do pecíolo na videira 'niagara rosada'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p.649-659, 2011.

VILELA, R.G.; ARF, O.; KAPPES, C.; KANEKO, F.H.; GITTI, D.C.; FERREIRA, J.P. Desempenho agronômico de híbridos de milho, em função da aplicação foliar de fungicidas. **Jornal de Biosciência**, v. 28, n. 1, p. 25-33, Jan./Feb. 2012.

ZÁRATE, N.A.H.; VIEIRA, M.C. Produção do milho doce cv. Superdoce em sucessão ao plantio de diferentes cultivares de inhame e adição de cama-de-frango. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 5-9, 2003.

ANEXO

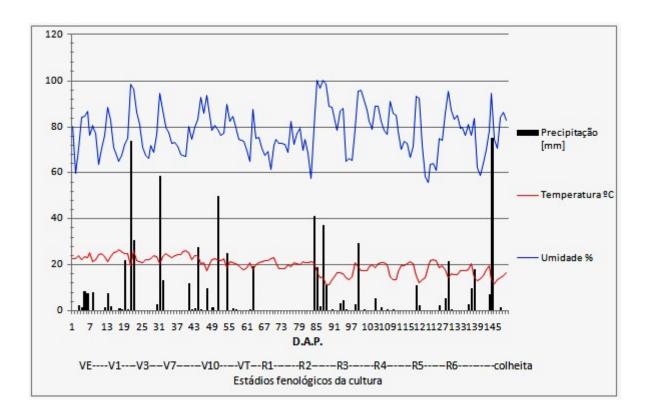


Figura 1 -. Valores diários de precipitação pluvial, temperatura (°C) média e umidade relativa do ar média (%) na área experimental correspondentes ao período de 28/02/2014 a 29/07/2014, no município de Mandaguari, PR.

Fonte: SIMEPAR.

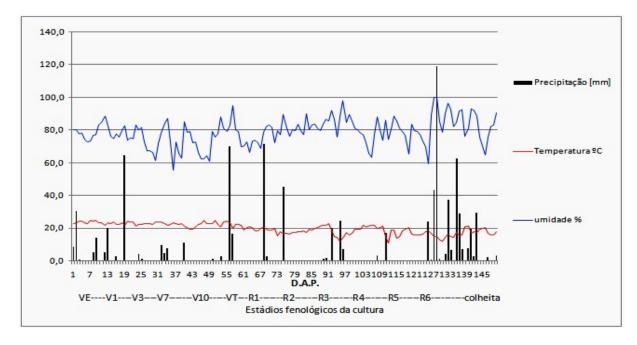


Figura 2 - Valores diários de precipitação pluvial, temperatura (°C) média e umidade relativa do ar média (%) na área experimental correspondentes ao período de 25/02/2015 a 24/07/2015, no município de Mandaguari, PR.

Fonte: SIMEPAR.

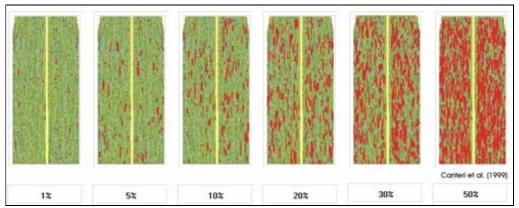


Figura 3 -. Escala diagramática de severidade de mancha de ferrugem comum descrita por Canteri et al. (1999).

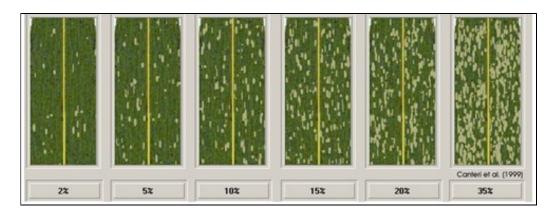


Figura 4 - Escala diagramática de severidade de mancha branca descrita por Canteri et al. (1999).

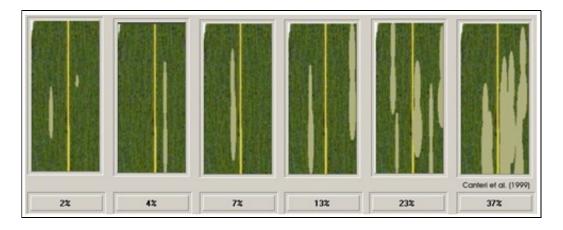


Figura 5. Escala diagramática de severidade de mancha de cercospora descrita por Canteri et al. (1999).

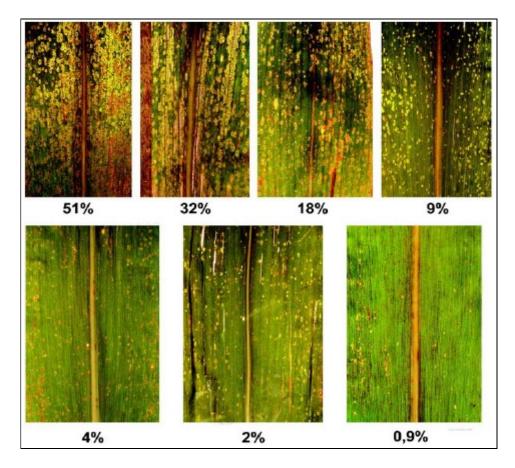


Figura 6 -. Escala diagramática de severidade de mancha ocular descrita Camochena, et al. (2008).

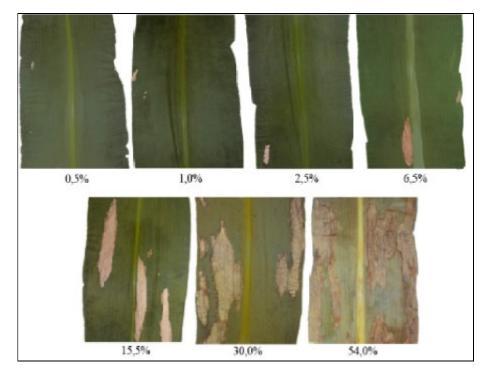


Figura 7 - Escala diagramática de severidade de helmintosporiose descrita por Lazaroto et al. (2012).