

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

ELOISA LORENZETTI

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ELABORAÇÃO DE ESCALAS
DIAGRAMÁTICAS, CARACTERES AGRONÔMICOS E MANEJO DE DOENÇAS
EM MILHO POR PRODUTOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E
ZINCO**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2019

ELOISA LORENZETTI

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ELABORAÇÃO DE ESCALAS
DIAGRAMÁTICAS, CARACTERES AGRONÔMICOS E MANEJO DE DOENÇAS
EM MILHO POR PRODUTOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E
ZINCO**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Doutorado, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Luis Portz

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2019

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Lorenzetti, Eloisa

Atividade antimicrobiana, elaboração de escalas diagramáticas, caracteres agronômicos e manejo de doenças em milho por produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco / Eloisa Lorenzetti; orientador(a), José Renato Stangarlin; coorientador(a), Roberto Luis Portz, 2019.
129 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.

1. Adubos foliares. 2. Fitopatometria. 3. Quelatos. 4. Zea mays L.. I. Stangarlin, José Renato . II. Portz, Roberto Luis. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

ELOÍSA LORENZETTI

Atividade antimicrobiana, elaboração de escalas diagramáticas, caracteres agrônômicos e manejo de doenças em milho por produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - José Renato Stangarlin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Mal. Cândido Rondon (UNIOESTE)

Odair José Kuhn

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Mal. Cândido Rondon (UNIOESTE)

Márcia de Holanda Nozaki

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR)

Daniel Debona

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Santa Helena (UTFPR)

José Barbosa Duarte Júnior

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Mal. Cândido Rondon (UNIOESTE)

Marechal Cândido Rondon, 19 de dezembro de 2019

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Antonio Lorenzetti e Elide Maria Lorenzetti,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela bênção, força e coragem para enfrentar os obstáculos da vida.

Agradeço ao meu pai Antonio Lorenzetti, minha mãe Elide Maria Lorenzetti, minha irmã Elizana Lorenzetti Treib, e meu companheiro Juliano Tartaro que são tudo de mais precioso que tenho, e que além de todo amor, compreensão, companhia, e incentivo, me apoiaram e nunca mediram esforços para me auxiliar. Obrigada por investirem na minha formação. Meu amor por vocês é incondicional e imensurável.

Agradeço aos meus sogros, Oscar Tartaro e Suelci Maria Tartaro por cederem a área para realização dos experimentos e por me ajudarem de inúmeras formas.

Ao meu orientador Professor Dr. José Renato Stangarlin meu agradecimento especial, pela excelente orientação na graduação, mestrado e doutorado, pela confiança, incentivo, ensinamentos e paciência. Sempre será meu exemplo.

Ao Professor Dr. Roberto Luiz Portz pela excelente coorientação, ajuda e encorajamento em enfrentar as dificuldades.

Ao Professor Dr. Odair José Kuhn por sempre estar disposto a ajudar, pelos ensinamentos, paciência, auxílio e pelos sábios conselhos. Eu realmente aprendi muito contigo.

Ao professor Dr. Edmar Soares de Vasconcelos, por me ensinar a usar o programa estatístico GENES e repassar seus conhecimentos e ao professor Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior por disponibilizar o laboratório.

Ao Professor Dr. Affonso por ceder seu laboratório e ao Emerson Gasparotto e Gilmar Gomes pela ajuda nas análises de nutrientes.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de realizar o curso, ao Dr. Neumárcio Vila Nova da Costa, coordenador do Programa de Pós Graduação da UNIOESTE e à Leila Dirlene Allievi Werlang por sempre auxiliar com gentileza, simpatia e agilidade.

Aos funcionários da UNIOESTE, em especial ao Sr. Edelberto e Sr. Antônio, que além de abrirem os laboratórios se preocupavam comigo.

Aos companheiros do grupo COBALFI e aos amigos que me acompanharam e ajudaram as vezes que precisei, fazendo meus dias mais alegres e me ensinando técnicas.

A empresa NPA por disponibilizar os produtos testados.

À Comissão de Aperfeiçoamento Pessoal do Nível Superior – CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma participaram da realização deste estudo. Muito obrigada!

RESUMO

LORENZETTI, Eloisa. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, dezembro de 2019. **Atividade antimicrobiana, elaboração de escalas diagramáticas, caracteres agronômicos e manejo de doenças em milho por produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco.** Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin. Coorientador: Prof. Dr. Roberto Luis Portz.

Objetivou-se com este estudo verificar se produtos quelatados à base de cálcio, cobre, manganês e zinco inibem a germinação de esporos de *Puccinia sorghi*, *Cercospora* sp. e *Exserohilum turcicum*, possuem potencial para manejo de *Pantoea ananatis*, *Puccinia polysora*, *Cercospora zeaе maydis*, *E. turcicum*, *Diplodia macrospora* e *Pseudomonas avenae* em milho de primeira safra, e de *P. ananatis*, *P. polysora* e *C. zeaе maydis* em milho de segunda safra, assim como se interferem nos caracteres agronômicos. Adicionalmente, foram desenvolvidas e validadas escalas diagramáticas para quantificação da severidade da mancha foliar causada pelo fungo *D. macrospora* e da mancha bacteriana da folha em milho causada por *P. avenae*. Todos os experimentos realizados utilizaram como tratamento produtos comerciais quelatos de aminoácidos com os elementos cálcio 15%, cobre 5%, manganês 15% e zinco 10%, na dose de 0,5 kg ha⁻¹, 0,3 L ha⁻¹, 0,4 kg ha⁻¹ e 1 L ha⁻¹, respectivamente; um tratamento com fungicida (azoxistrobina 20% e ciproconazol 8% na dose de 0,3 L ha⁻¹ + propiconazol 25% na dose de 0,4 L ha⁻¹); e um tratamento com água. Foram realizados ensaios *in vitro* utilizando os esporos e a aplicação dos tratamentos no mesmo momento (zero) e 1, 2, 3, 4 e 5 horas após a adição dos esporos. Realizou-se ensaios *in vivo* de primeira e segunda safra em campo por dois anos consecutivos utilizando dois híbridos simples, e avaliando os caracteres agronômicos: altura de plantas, diâmetro de colmo, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira da espiga, produtividade e massa de mil grãos, bem como a severidade das doenças foliares por meio de escala diagramática ou notas de severidade. Para a primeira safra, realizou-se também a análise química das folhas. Para as escalas, foram coletadas folhas de milho com diferentes níveis de severidade da doença e realizada a medida das áreas foliares total e lesionada do terço médio, determinando os limites mínimo e máximo da doença. Para ambas, a validação foi realizada por oito avaliadores, quatro inexperientes e quatro experientes. Nos testes *in vitro*, na aplicação simultânea dos tratamentos e esporos, os quelatos apresentaram redução média de 39%, tanto na germinação de esporos de *P. sorghi* quanto de *Cercospora* sp. Estes mesmos patógenos tiveram redução média de 52%, 59%, 77%, 87%, 81% e 64% para *P. sorghi* e de 40%, 33%, 17%, 18%, 4% e 2% para *Cercospora* sp., nos tempos, zero, 1, 2, 3, 4 e 5 horas após o

tratamento, respectivamente. Não houve efeito inibitório para *E. turcicum*. *In vivo*, na primeira safra 2016/2017 para as variáveis número de fileiras por espiga e número de grãos por fileiras, o fungicida apresentou os maiores valores, e para as variáveis massa de mil grãos e produtividade, os quelatos não diferiram do fungicida e foram diferentes da água. Na primeira safra 2017/2018, para massa de mil grãos e produtividade, apenas o fungicida aumentou significativamente. Em ambas as primeiras safras, não houve efeito significativo dos quelatos sobre a severidade das doenças, e para os elementos testados, não houve diferença no teor dos nutrientes antes e depois da aplicação foliar. Em nenhum dos anos estudados para segunda safra, foi registrado efeito significativo dos quelatos para os caracteres agronômicos e para a severidade das doenças que ocorreram nas condições em que o estudo foi conduzido. Para a mancha foliar causada por *D. macrospora*, a escala proposta apresentou seis níveis de severidade: 0,5%; 3%; 8%; 23%; 36% e 55%, e para a mancha bacteriana da folha foram: 1,5%, 2,5%, 9%, 18%, 46% e 70%. Os produtos podem influenciar em caracteres agronômicos em primeira safra, não tendo influência na segunda safra. Para a primeira e a segunda safra, não houve influência sobre a severidade das doenças avaliadas em milho nos híbridos e nas condições edafoclimáticas em que o estudo foi realizado. Houve melhora da acurácia e da precisão dos avaliadores quando utilizaram as escalas diagramáticas propostas.

Palavras-chave: Adubos foliares. Doenças. Fitopatometria, Quelatos. *Zea mays* L.

ABSTRACT

LORENZETTI, Eloisa. Western Paraná State University, December 2019. **Antimicrobial activity, elaboration of diagrammatic scales, agronomic characters and disease management in corn by calcium, copper, manganese and zinc based products.** Adviser: José Renato Stangarlin. Co-adviser: Roberto Luis Portz.

The objective of this study was to verify whether chelated products based on calcium, copper, manganese and zinc inhibit the spores germination of *Pucciniasorghii*, *Cercospora* sp. and *Exserohilumturcicum*, if they have capacity to manage *Pantoeaananatis*, *Pucciniapolysora*, *Cercosporazeamaydis*, *E.turcicum*, *Diplodiamacrospora* and *Pseudomonas avenae* in first seasoncorn, and in the management of *P.ananatis*, *P.polysora* and *C.zeaemaydis* in second seasoncorn, as well as if it can interfere in agronomic traits. Additionally, diagrammatic scales were developed and validated to quantify the severity of leaf spot caused by *D. macrospora* fungus and leaf bacterial spot in maize caused by *P. avenae*. The treatments were commercial chelates of amino acids with the elements calcium 15%, copper 5%, manganese 15% and zinc 10%, at the doses of 0.5 kg ha⁻¹, 0.3 L ha⁻¹, 0.4 kg ha⁻¹ and 1 L ha⁻¹, respectively; a treatment with fungicide (20% azoxystrobin and 8% ciproconazole at the dose of 0.3 L ha⁻¹ + 25% propiconazole at the dose of 0.4 L ha⁻¹); and a treatment with water. *In vitro* tests were performed using spores and treatments at the same time (zero) and 1, 2, 3, 4 and 5 hours after the addition of the spores. *In vivo* trials of first and second crops were performed in the field for two consecutive years using two simple hybrids, and evaluating the agronomic traits: plant height, stalk diameter, number of rows per spike, number of grains per row, productivity and mass of a thousand grains, as well as the severity of leaf diseases using diagrammatic scale or severity notes. For the first season, the chemical analysis of the leaves was also carried out. For the diagrammatic scales, leaves with different levels of disease severity were collected and the total leaf area and the injured area of the middle third were measured determining the minimum and maximum limits of the disease. For both, the validation was performed by eight evaluators, four inexperienced and four experienced. In the *in vitro* tests, in the simultaneous application of the treatments and spores, the chelates presented a mean reduction of 39%, both for spores germination of *P. sorghi* and *Cercosporasp*. These same pathogens showed a mean reduction of 52%, 59%, 77%, 87%, 81% and 64% for *P. sorghi* and 40%, 33%, 17%, 18%, 4% and 2% for *Cercospora* sp., in the times, zero, 1, 2, 3, 4 and 5 hours after treatment, respectively. There was no inhibitory effect for *E. turcicum*. *In vivo*, in the first crop 2016/2017 for the variables

number of rows per ear and number of grains per row, the fungicide presented the highest values, and for the variables thousand-grain mass and productivity, the chelates did not differ from the fungicide and were other than water. In the first season 2017/2018 for one thousand grain mass and productivity, only the fungicide increased significantly. In both the first harvests there was no significant effect of chelates for the evaluation of disease severity and for the elements tested, and there was no difference in the nutrient content before and after foliar application. In none of the years studied for the second season, significant effect of chelates was recorded for agronomic traits and for the diseases severity. For leaf spot caused by fungus *D.macrospora*, the proposed diagrammatic scale presented six levels of severity: 0,5%; 3%; 8%; 23%; 36% and 55%, and for the bacterial spot of the leaf were: 1,5%, 2,5%, 9%, 18%, 46% and 70%. The products may influence agronomic traits in the first season, with no influence on the second season. For the first and second harvests, there was no influence on the severity of the diseases evaluated in corn in hybrids and under the edaphoclimatic conditions in which the study was conducted. There was an improvement in the accuracy and precision of the evaluators when using the proposed diagrammatic scales.

Keywords: Leaf fertilizers. Diseases. Phytopathometry. Chelates. *Zea mays* L.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 CAPÍTULO 1: CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO E AS DOENÇAS DO MILHO: UMA REVISÃO.....	14
2.1 A CULTURA DO MILHO.....	15
2.2 DOENÇAS DO MILHO.....	16
2.3 CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS.....	17
2.4 NUTRIENTES E CONTROLE DE DOENÇAS.....	19
2.4.1 Cálcio (Ca).....	20
2.4.2 Cobre (Cu).....	21
2.4.3 Manganês (Mn).....	21
2.4.4 Zinco (Zn).....	22
2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
3.6 REFERÊNCIAS.....	23
3 CAPÍTULO 2: GERMINAÇÃO DE ESPOROS EM QUELATOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO.....	28
3.1 INTRODUÇÃO.....	29
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
3.4 CONCLUSÕES.....	42
3.5 REFERÊNCIAS.....	42
4 CAPÍTULO 3: CARACTERES AGRONÔMICOS E MANEJO DE DOENÇAS EM MILHO DE PRIMEIRA SAFRA POR PRODUTOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO.....	45
4.1 INTRODUÇÃO.....	46
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.4 CONCLUSÃO.....	67
4.5 REFERÊNCIAS.....	67
5. CAPÍTULO 4: CARACTERES AGRONÔMICOS E MANEJO DE DOENÇAS EM MILHO DE SEGUNDA SAFRA POR PRODUTOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO.....	72
5.1 INTRODUÇÃO.....	73

5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	74
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
5.4 CONCLUSÃO.....	90
5.5 REFERÊNCIAS.....	90
6 CAPÍTULO 5: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA MANCHA FOLIAR DE <i>Diplodia macrospora</i> EM MILHO.....	94
6.1 INTRODUÇÃO.....	95
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	96
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	98
6.4 CONCLUSÃO.....	107
6.5 REFERÊNCIAS.....	107
7 CAPÍTULO 6: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA MANCHA BACTERIANA DA FOLHA EM MILHO CAUSADA POR <i>Pseudomonas avenae</i>.....	110
7.1 INTRODUÇÃO.....	111
7.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	112
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	114
7.4 CONCLUSÃO.....	125
7.5 REFERÊNCIAS.....	125
8 CONCLUSÕES GERAIS.....	129

1 INTRODUÇÃO GERAL

Esta tese de doutorado foi redigida em forma de capítulos. Os objetivos de todo o trabalho foram verificar se produtos quelatos à base de cálcio cobre, manganês e zinco podem influenciar no manejo de doenças da parte aérea do milho, por auxiliarem na proteção da planta pela ativação de defesas ou ter ação antimicrobiana direta, e ainda avaliar os caracteres agronômicos da cultura do milho de primeira e segunda safra em função dos produtos aplicados.

Desta forma, os resultados obtidos foram separados em capítulos. No capítulo 1 foi realizada uma revisão de literatura para aprofundamento de conhecimentos na área de estudo da tese.

O capítulo 2 visou verificar se os produtos estudados (quelatos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco) podem inibir *in vitro* e *in vivo* a germinação de esporos dos patógenos *Puccinia sorghi*, *Exserohilum turcicum* e *Cercospora* sp. causadores da ferrugem-comum, mancha foliar de *Exserohilum* e cercosporiose, respectivamente.

O capítulo 3 buscou verificar se os mesmos produtos interferem no manejo de doenças, estudando as de incidência natural na área: mancha branca, cercosporiose e ferrugem polysora na safra 2016/2017, e mancha branca, diplodia e cercosporiose na safra 2017/2018, considerando dois híbridos simples de milho, 30F53 Leptra RR e SX 7331 VIPTERA. Na safra 2017/2018 apenas para o híbrido SX 7331 VIPTERA ocorreu o aparecimento de mancha bacteriana (*Pseudomonas avenae*) e mancha de *Exserohilum*. Além das doenças, verificou-se se tais produtos interferiam em caracteres agronômicos dos dois híbridos simples de milho, em primeira safra.

O capítulo 4 teve os mesmos objetivos do capítulo 3, porém, o estudo foi realizado em segunda safra (safrinha) utilizando os híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, e as doenças que apareceram espontaneamente foram mancha branca, cercosporiose e ferrugem polysora na segunda safra de 2017, e mancha branca e cercosporiose na segunda safra de 2018.

Ao realizar as avaliações de severidade das doenças nos experimentos mencionados nos capítulos 3 e 4, foi verificado que a diplodia e a mancha bacteriana não apresentavam escala diagramática para avaliação, o que levou a elaborar escalas diagramáticas para que estas pudessem auxiliar em trabalhos futuros. Diante disto, o capítulo 5 trata da elaboração e validação da escala diagramática para diplodia e o capítulo 6 da elaboração e validação da escala diagramática para mancha bacteriana.

A hipótese do trabalho é que os produtos quelatos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco inibem a germinação de esporos de patógenos do milho, que influenciam no controle de

doenças da parte aérea e/ou favorecem os caracteres agronômicos do milho de primeira e segunda safras, e que as escalas diagramáticas desenvolvidas para avaliação da severidade de diplodia e mancha bacteriana podem melhorar a precisão e a acurácia.

2 CAPÍTULO 1: CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO E AS DOENÇAS DO MILHO: UMA REVISÃO

Resumo - O milho é cultivado no Brasil durante todo o ano e em praticamente todo o território, sendo os problemas fitossanitários e nutricionais muito expressivos nesta cultura. Sabe-se que fertilizantes são capazes de elevar a produtividade e auxiliar no controle de doenças, características que tornam os nutrientes indispensáveis no combate à fome e podem auxiliar na diminuição do uso de fungicidas prejudiciais ao meio ambiente. Existem mais de 15 elementos considerados essenciais para as plantas e entre eles encontram-se cálcio, cobre, manganês e zinco. Estes serão detalhados neste estudo a fim de entender como podem agir no controle de doenças do milho.

Palavras-chave: Nutrientes. *Zea mays* L.

CALCIUM, COPPER, MANGANESE AND ZINC AND CORN DISEASES: A REVIEW

Abstract – Corn is cultivated in Brazil throughout the year and practically all over the territory, being the phytosanitary and nutritional problems very expressive in this crop. It is known that fertilizers can elevate productivity and assisting in the control of diseases, characteristics that make nutrients indispensable in combating hunger and can help to reduce the use of fungicides and their negative impact on the environment. There are more than 15 elements considered essential for plants and among them are calcium, manganese, copper and zinc that will be detailed in this study in order to understand how they can act in the control of corn diseases.

Keywords: Nutrients. *Zea mays* L.

A cultura do milho está exposta a estresses bióticos e abióticos que limitam a expressão do máximo potencial genético para a produtividade de grãos (BRITO et al., 2013), independente do seu local de cultivo e do manejo adotado.

A grande abrangência geográfica deste cereal permite seu desenvolvimento nas mais diversas condições edafoclimáticas, sendo que no Brasil é cultivado tanto na primeira safra (verão) como na segunda safra, o que justifica o grande número de doenças, já que esta continuidade de cultivo contribui na manutenção e na sobrevivência de diversos patógenos (BRITO et al., 2013).

Por afetar negativamente a produtividade do milho (ECCO et al., 2014) é necessário que se faça o manejo das doenças. Entre os princípios gerais de controle de Whetzel, encontram-se a proteção, comumente obtida pelo uso dos fungicidas em que os patógenos são atingidos de forma direta, e a imunização pelo uso de variedades resistentes, que é considerado um princípio ideal, já que não onera o custo de produção e auxilia na redução do impacto ambiental (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2018). A indução de resistência também pode ser incluída no princípio da imunização.

Segundo Bedendo et al. (2018a) os nutrientes podem interferir nas duas formas citadas anteriormente, ou seja, podem tornar a planta predisposta ou não à ação dos agentes patogênicos por modificar a composição e o crescimento dela, o que interfere em seus mecanismos de defesa, ou diretamente alterando a atividade microbiana da rizosfera e do solo.

De acordo com Motter et al. (2012), o estado nutricional em que as plantas se encontram é considerado um dos principais fatores responsáveis por mecanismos de defesa frente aos fatores bióticos. Segundo Lima et al. (2010), a falta deste equilíbrio também está relacionada com o aumento da severidade de determinadas doenças o que demonstra que um manejo adequado buscando o balanço nutricional tanto de macro como micronutrientes pode dificultar o desenvolvimento de algumas doenças (BEDENDO et al., 2018a).

A utilização de fungicidas tem demonstrado eficácia, mantendo a produtividade da cultura e proporcionando diminuição na severidade das principais doenças (ECCO et al., 2014). Todavia, segundo Leite e Stangarlin (2008), o controle de doenças de plantas em monoculturas está muito dependente dos fungicidas, o que preocupa os órgãos governamentais, que estimulam a busca por alternativas de menor impacto ambiental. De acordo com Pascholati et al. (2014), existem muitos produtos capazes de induzir resistência em plantas a patógenos, porém, são necessários estudos sobre sua aplicabilidade e possibilidade de uso para esse fim.

2.1 A CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta anual que pertence à família *Poaceae* e está presente em quase todas as propriedades agrícolas, desde a agricultura familiar até as mais tecnificadas (CRUZ et al., 2008). Devido ao seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, é considerado um dos mais importantes cereais cultivados e consumidos no mundo (KARAN; MAGALHÃES, 2014).

O milho apresenta metabolismo C_4 e possui grande adaptação a diversas condições ambientais, respondendo a altas temperaturas (24 e 30 °C), o que influencia no acúmulo de

graus-dias, e possuindo exigência hídrica elevada (média de 600 mm), principalmente no estágio de florescimento, a fim de que a cultura possa alcançar o pleno desenvolvimento (MAGALHÃES; DURÃES, 2006). O ciclo desta cultura é, portanto, determinado pelo número de dias para o florescimento e a velocidade em que a umidade dos grãos é perdida (MARCONDES et al., 2015).

No Brasil existe a divisão da produção em duas épocas de cultivo, a de verão, também denominada de primeira safra, e a de inverno, denominada safrinha ou segunda safra (CONAB, 2019). A produção brasileira de milho estimada para a safra de 2019/2020 é superior a 98 milhões de toneladas, sendo esse total de produção utilizado em diferentes setores ou segmentos da economia. O Estado do Paraná ocupa o segundo lugar de produção, atrás apenas do Mato Grosso, sendo responsável por uma produção estimada superior a 38 milhões de toneladas (CONAB, 2019).

Relatos de diminuição da produtividade pelo ataque de patógenos vem sendo frequentes em inúmeras regiões do Brasil (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2018). De acordo com Zambolim e Ventura (2012b) as doenças podem provocar grande redução de produtividade e qualidade, afetando negativamente a lucratividade.

2.2 DOENÇAS DO MILHO

O milho pode apresentar doenças radiculares, de colmo, foliares e de espiga/grãos, sendo as principais a cercosporiose (*Cercospora zae-maydis*, *C. zeina* e *C. sorghi* f. sp. *maydis*), mancha-branca (*Phaeosphaeria maydis* e *Pantoea ananatis*), mancha foliar de *Exserohilum* (*Exserohilum turcicum*), ferrugem comum (*Puccinia sorghi*), ferrugem polysora (*Puccinia polysora*), ferrugem tropical (*Physopella zae*), mancha-de-diplodia (*Stenocarpella macrospora*), antracnose (*Colletotrichum graminicola*) e fusarioses (*Fusarium verticillioides*, *F. subglutinans* e *F. proliferatum*) (CARVALHO et al., 2016). No caso dos grãos, os patógenos mais relevantes são os que produzem metabólitos secundários como as micotoxinas, tóxicas aos humanos e animais (FREIRE et al., 2007).

Entre as doenças foliares mais comuns pode-se citar cercosporiose, mancha-branca, mancha foliar de *Exserohilum*, ferrugem polysora e mancha foliar de *Diplodia*.

A cercosporiose apresenta lesões de tamanho variado, podendo destruir rapidamente grande área foliar (NEGA et al., 2016). As lesões são delimitadas pelas nervuras e apresentam coloração verde-oliva, que em ambiente de alta umidade adquirem coloração cinza, cobertas por esporos (CARVALHO et al., 2016), provocando grandes danos (RAMATHANI et al., 2011).

A mancha branca é uma doença distribuída de forma generalizada que vem se destacando entre as doenças foliares do milho, devido à grandiosa amplitude geográfica de ocorrência (MANFROI et al.,2016), sendo capaz de diminuir a produtividade principalmente quando prevalece alta umidade relativa, apresentando danos de até 60% (BRITO et al., 2013). De início, as lesões apresentam-se pequenas e cloróticas, porém, tornam-se maiores, esbranquiçadas com bordos escuros, arredondados ou oblongas, podendo coalescer e levar a morte foliar (CARVALHO et al., 2016).

Quanto à mancha foliar de *Exserohilum*, essa possui importância cada vez maior e seus danos são mais ou menos significativos dependendo da época da infecção. O patógeno causador da doença é favorecido por alta umidade e temperaturas entre 18 e 27 °C. As lesões são elípticas e necróticas, aparecendo inicialmente nas folhas inferiores e apresentando coloração verde-cinza a marrom (CARVALHO et al., 2016).

A ferrugem polysora é considerada a doença de maior poder de destruição na região central do Brasil, embora ocorra em todo o território brasileiro (CARVALHO et al., 2016). Costa et al. (2012) tratam esta ferrugem como a mais agressiva dentre as que acometem o milho, visto que foram registrados danos de até 65%. As pústulas são pequenas, circulares ou elípticas, inicialmente amarelas ou douradas e em estádios mais avançados tornam-se marrom-escuras em função da formação dos teliósporos. Esta doença leva a morte prematura da planta por meio da destruição das folhas (CARVALHO et al., 2016).

A mancha foliar de diplodia apresenta maior severidade após longo tempo de nebulosidade e chuva. As lesões são necróticas e possuem formato bastante variado, porém todas apresentam o ponto de infecção original onde se inicia a formação dos picnídios (CARVALHO et al., 2016). Nas folhas, também pode haver produção de inóculo suficiente para que a espiga seja infectada, o que diminui a sanidade dos grãos e ainda mais a produtividade (KOEHLER, 1942; BAMPI et al., 2011).

2.3 CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

A ocorrência de doenças no milho torna-se mais frequente com o aumento das áreas cultivadas e a extensão das épocas de semeadura, visto que no Brasil o milho é semeado o ano todo, e com a utilização de cultivares precoces que apresentam maior potencial de produção e suscetibilidade a patógenos (CARVALHO et al., 2016).

As doenças podem ser controladas de diversa formas, utilizando vários métodos de controle, os quais podem atuar na planta, ambiente ou patógeno (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2018).

O controle genético utiliza plantas resistentes que diminuem a doença de forma expressiva e é considerado ideal, pois pode ser aplicado em grandes áreas e gera baixo impacto ambiental (CAMARGO, 2018).

O controle cultural engloba práticas agrícolas que minimizam os efeitos das doenças, podendo atuar tanto sobre o hospedeiro quanto sobre o patógeno. Como exemplos pode-se citar a utilização de mudas e sementes sadias, eliminação de plantas daninhas e hospedeiros alternativos, rotação de culturas e eliminação de restos culturais (BEDENDO et al., 2018b). De acordo com Lanza et al. (2016), a utilização de cultivares resistentes associada a medidas culturais é o manejo fitossanitário que geralmente se aplica na cultura do milho.

O controle físico faz uso de fatores como refrigeração, tratamento térmico do solo e de órgãos de propagação, solarização, radiação ionizante e radiação ultravioleta para que as doenças sejam controladas (BEDENDO et al., 2018b).

O controle biológico de doenças de plantas é realizado por organismos, exceto o ser humano, para reduzir a população de patógenos (MEDEIROS et al., 2018).

O controle químico é utilizado em larga escala por ser viável economicamente, prático e eficiente, e se baseia no uso de moléculas orgânicas ou inorgânicas as quais podem ser sintetizadas ou naturais (SILVA JÚNIOR; BEHLAU, 2018).

Algumas formas de controle de doenças podem se encaixar no chamado método alternativo de controle, em que se utiliza medidas preventivas que dificultam a ocorrência dos patógenos em quantidade que causam danos econômicos (BETTIOL; GHINI, 2003).

Embora haja muitas formas de controle de doenças, emprega-se basicamente o uso de fungicidas por ser prático, eficiente e economicamente viável (DUARTE et al., 2009). Devido à conscientização dos problemas causados pelo uso excessivo de fungicidas busca-se diminuir seu uso e novas formas de controle de doenças vem sendo estudadas (MORANDI; BETTIOL, 2009).

O uso de métodos alternativos no controle de doenças é uma forma barata e menos agressiva ao meio ambiente e a saúde dos homens e dos animais, por causarem menor impacto na biodiversidade (HAMERSCHMIDT et al., 2012).

O objetivo dessa nova visão de controle é dificultar a ocorrência de fitopatógenos em níveis populacionais que causem danos econômicos, ao invés de se utilizar medidas curativas,

que são usadas apenas quando as doenças já ocorrem em níveis economicamente indesejáveis (BETTIOL, 2008).

2.4 NUTRIENTES E CONTROLE DE DOENÇAS

Um fator muito importante para o controle de doenças é o estado nutricional em que as plantas se encontram, pois o equilíbrio nutricional é considerado um dos principais fatores responsáveis por mecanismos de defesa frente aos fatores bióticos (MOTTER et al., 2012), e a falta deste equilíbrio também está relacionada com o aumento da severidade de determinadas doenças (LIMA et al., 2010).

Assim, um manejo adequado buscando o balanço nutricional poderá dificultar o desenvolvimento de algumas doenças e, quando fornecidos de forma adequada, os nutrientes são capazes de fazer com que a planta apresente maior capacidade de reação ao patógeno (BEDENDO et al., 2018a).

Tanto os macronutrientes quanto os micronutrientes são capazes de modificarem a suscetibilidade da planta, pois têm ação sobre o vigor e as reações de defesa do vegetal (BEDENDO et al., 2018a). Os mesmos autores dizem que deve-se ter cuidado com relação ao suprimento dos nutrientes, visto que tanto o excesso quanto a deficiência causam predisposição das plantas ao ataque dos patógenos, não apenas por afetar o crescimento e a composição da planta, mas também por afetar a atividade microbiana tanto na rizosfera quanto no solo.

Segundo Marschner (2012), a nutrição mineral tem influência no grau de resistência da planta por alterar a morfologia e histologia, ou ainda modificar a composição química dos tecidos em resposta à infecção por patógenos. Além desses fatores, o estado nutricional da planta também pode interferir nos mecanismos de defesa, protegendo as plantas através de barreiras físicas que evitam a penetração das hifas, devido ao espessamento da cutícula ou lignificação de células epidérmicas, não permitindo a saída de açúcares e aminoácidos utilizados na nutrição dos patógenos, e por produzir compostos fenólicos com propriedades fungistáticas.

Zambolim e Ventura (2012b) afirmam que quando há equilíbrio entre os minerais na planta, há também aumento da resistência das mesmas aos patógenos por meio de barreiras mecânicas (por exemplo lignificação) ou pela síntese de compostos antimicrobianos (como fitoalexinas), ou seja, mesmo a doença não podendo ser eliminada por completo por um nutriente específico, a gravidade desta pode ser diminuída.

Para ser considerado um nutriente, o elemento, seja ele macro ou micro, deve exercer uma função fisiológica essencial, ou seja, a presença dele deve ser imprescindível para que a planta consiga completar seu ciclo vital (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Mais de 15 elementos são essenciais às plantas cultivadas (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012b), entre eles estão cálcio, cobre, manganês e zinco (ORO et al., 2012).

2.4.1 Cálcio (Ca)

O Ca está vinculado a funções de sistemas enzimáticos específicos, e por ter efeito no pH do solo, pode atuar modificando a população dos microrganismos antagonistas (MOTTER et al., 2012).

O efeito do Ca em elevar o pH contribui na diminuição de diversas doenças de sistema radicular, como por exemplo aquelas causadas por *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Botrytis*, *Fusarium* e *Phytophthora*, entre outras. Este nutriente também possui ação inibitória de toxinas fúngicas ou ainda pode torná-las inativas (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012a).

O Ca contido nos tecidos das plantas afeta a incidência de doenças quando os níveis desse elemento são baixos ou altos (BOUDSOCQ et al., 2010). Este macronutriente tem ação na estabilidade estrutural do tecido da planta, na movimentação de metabolitos de uma célula para a outra, na permeabilidade e seletividade da membrana, atua como mensageiro secundário e ativa proteínas envolvidas em processos bioquímicos vitais, como por exemplo, a calmodulina (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Muitos patógenos conseguem atingir o tecido vegetal pela produção de enzimas pectolíticas extracelulares, como por exemplo a galacturonase, sendo estas enzimas responsáveis por degradarem a lamela media. No caso da galacturonase, sua atividade é drasticamente inibida na presença de cálcio, favorecendo a planta (MALAVOLTA, 2008; MORALES et al., 2012).

O Ca é um dos componentes que formam a lamela média, e assim como o nitrogênio, é importante no manejo de doenças, sendo que vários estudos demonstram redução tanto de incidência como da severidade de várias doenças em culturas de elevada importância (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012a).

2.4.2 Cobre (Cu)

O Cu está envolvido no metabolismo de compostos secundários e caso haja deficiência deste nutriente, poderão ocorrer alterações morfológicas ou bioquímicas que favorecem a infecção de patógenos (MALAVOLTA, 2008), pela menor lignificação da parede celular e aumento da suscetibilidade das plantas (VIECELLI, 2017).

Este elemento possui baixa mobilidade, sendo considerado ativador ou componente de enzimas envolvidas na respiração, fotossíntese e desintoxicação por radicais livres ou espécies reativas de oxigênio pela enzima peroxidase (ZANÃO JÚNIOR, 2012). A diminuição da atividade dessa enzima leva ao acúmulo de fenóis e à diminuição da lignificação e de substâncias melanóticas, sendo assim, o papel do Cu no metabolismo secundário indica uma função importante do elemento para conferir à planta resistência mecânica a patógenos (KIRKBY; RÖMHELD, 2007).

Quanto maior a quantidade de Cu, menor a atividade de peroxidase e maior acúmulo de compostos fenólicos, ambos tóxicos para bactérias. Quanto maior a quantidade de cobre maior a atividade de polifenoloxidase responsável por converter compostos fenólicos em quinonas (ZAMBOLIN; VENTURA, 2012c).

Além de fazer parte da biossíntese de lignina e alcaloides, o cobre faz parte da biossíntese de substâncias melanóticas marrons que se formam em ferimentos de tecidos e que podem impedir a germinação de esporos fúngicos e o crescimento de tubos germinativos (ZAMBOLIN; VENTURA, 2012c).

Assim, pode-se verificar que o Cu afeta a ocorrência de doenças em plantas por ação tóxica direta (antimicrobiano), efeitos na resistência das plantas ou efeitos na virulência dos patógenos (ZAMBOLIN; VENTURA, 2012c).

2.4.3 Manganês (Mn)

O Mn atua como importante cofator de diversas enzimas-chave na biossíntese dos metabólitos secundários da planta, os quais estão associados com a via do ácido chiquímico, incluindo aminoácidos aromáticos fenólicos, cumarinas, ligninas e flavonoides (KIRKBY; RÖMHELD, 2007). Além disso, está envolvido em inúmeros processos fisiológicos, como a proteção contra entrada de patógenos. Assim, a deficiência deste micronutriente reduz a defesa contra entrada de fitopatógenos (MALAVOLTA, 2008), o que pode, em parte, ser a causa da

maior suscetibilidade a doenças em plantas deficientes deste micronutriente (KIRKBY; RÖMHELD, 2007).

Na proteção contra a entrada de patógenos, o Mn atua principalmente na síntese de lignina e compostos fenólicos (MORALES et al., 2012), interferindo no início da infecção (MALAVOLTA et al., 1997).

O Mn apresenta baixa mobilidade nas plantas e tem ação no funcionamento e na multiplicação do cloroplasto, na fotossíntese e na regulação de hormônios, sendo cofator de mais de 35 enzimas, além de atuar na síntese de compostos fenólicos e de proteínas, e proteger as células dos efeitos dos radicais livres (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Com relação a proteção de plantas, é o micronutriente que tem maior associação com os mecanismos de resistência vegetal contra os patógenos, estando envolvido na síntese de compostos fenólicos e lignina. Atua também como ativador de enzimas como a fenilalanina amônia-liase, e compostos fenólicos como fitoalexinas, taninos, flavonoides, além da sua participação como cofator da peroxidase (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Além disso, esse micronutriente pode influenciar no crescimento, esporulação, reprodução e síntese de enzimas e toxinas por parte dos patógenos. Pode causar inibição de exoenzimas utilizadas por fungos para degradar a parede celular e pode causar efeito tóxico direto, não permitindo o crescimento microbiano (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Para a cultura do milho, de acordo com Borges et al. (2009), o Mn é considerado o segundo micronutriente mais relevante com base na demanda nutricional, assim, é muito importante que grande ênfase seja dada a ele a fim de suprir possível deficiência (GOTT et al., 2014).

2.4.4 Zinco (Zn)

O Zn atua no crescimento das plantas e está presente em várias enzimas que atuam na respiração e processos vinculados ao metabolismo de carboidratos e proteínas (MOTTER et al., 2012).

Existem muitas evidências de que o zinco, por manter a estrutura e a integridade da membrana e controlar a permeabilidade, atue também na proteção da planta contra vários patógenos. Quando ocorre deficiência desse micronutriente, as membranas tornam-se permeáveis, e os carboidratos e aminoácidos são liberados, atraindo patógenos tanto para as raízes quanto para as brotações (KIRKBY; RÖMHELD, 2007; ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Este elemento possui baixa mobilidade nas plantas e é responsável por regular a atividade de diversas enzimas por ser um cofator estrutural, além de atuar na síntese de proteínas e auxina (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

O Zn atua de forma direta sobre o patógeno e é essencial para esporulação e virulência de inúmeras espécies pertencentes ao gênero *Fusarium*, sendo apresentado benefícios deste nutriente através da redução de doenças de raízes em tomateiro, podridão de carvão em milho, mela em batata e murcha de raiz em abacateiro, entre outras (ZAMBOLIN; VENTURA, 2012c).

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mesmo não controlando por completo as doenças, os nutrientes em quantidade equilibrada podem contribuir para a elevação do nível de resistência das plantas. Além disso, podem agir diretamente sobre os patógenos ou sobre o ambiente, desfavorecendo-os ou não. Assim, mesmo que não ocorra a completa eliminação da doença, essa é diminuída.

A nutrição mineral também pode contribuir para a diminuição do uso de fungicidas por auxiliar no controle das doenças, visto que é um componente essencial no controle integrado de doenças.

O tipo do patógeno, a espécie e variedade da planta hospedeira, tipo do solo em que se encontram, clima da região, tempo, modo de aplicação dos nutrientes, e outros vários fatores, possuem influência na nutrição mineral das plantas e como os nutrientes agem nas mais diversas situações e locais em que se encontram.

Diante disso, estudos aprofundados englobando tais situações devem ser realizados a fim de obter resultados que possam auxiliar na compreensão das mais variadas situações e suas relações com os nutrientes e as doenças das plantas que tanto prejudicam a produtividade.

2.6 REFERÊNCIAS

BAMPI, D.; CASA R.T.; WORDELL FILHO, J.A.; KUHNEM J.R, P.R.; PILETTI, G. Relação entre a mancha-de-macrospora na folha da espiga e o rendimento e a sanidade de grãos de milho. In: Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, 8, 2011, Chapecó. **Resumos...** Chapecó: Epagri, 2011.

BEDENDO, I.P.; MASSOLA JÚNIOR, N.; AMORIM, L. Controles cultural e físico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018b. p.275-287.

BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; MATTOS-JR, D. Ambiente e doença. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v.1, 2018a. p. 93-103.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIN, L. Princípios gerais de controle. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 215-228.

BETTIOL, W. Conversão de sistemas de produção. In: POLTRONIERI, L.S.; ISHIDA, A.K.N. **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas: panorama atual e perspectivas na agricultura**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, p.289-308, 2008.

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, p.80-96, 2003.

BORGES, I.D.; PINHO, R.G. VON; PEREIRA, J.L.A.R. Acúmulo de micronutrientes em híbridos de milho em diferentes estádios de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.4, p.1018-1025, 2009.

BOUDSOCQ, M.; WILLMANN, M.R.; MCCORMACK, M.; LEE, H.; SHAN, L.; HE, P.; BUSH, J.; CHENG, S.H.; SHEEN, J. Differential innate immune signaling via Ca²⁺ sensor protein kinases. **Nature**, London, v.464, n.7287, p.418-422, 2010.

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G.; PEREIRA, J.L.A.R.; BALESTRE, M. Controle químico da Cercosporiose, Mancha-Branca e dos Grãos Ardidos em milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.60, n.5, p.629-635, 2013.

CAMARGO, L.E.A. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v.1, 2018. p.85-92.

CARVALHO, R.V.; PEREIRA, O.A.P.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v.2, p.549-560, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos. **Monitoramento agrícola – Safra 2019/20**, v.7. Safra 2019/20, n.3. Terceiro Levantamento, 2019.

COSTA, D.F.; VIEIRA, B.S.; LOPES, E.A.; MOREIRA, L.C.B. Aplicação de fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.11, p.98-105, 2012.

CRUZ, J.C.; KARAN, D.; MONTEIRO, M.A.R.; MAGALHÃES, P.C. **A cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas MG, 2008. 517p.

DUARTE, R.P.; JULIATTI, F.C.; FREITAS, P.T. de. Eficácia de diferentes fungicidas na cultura do milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.25, n.4, p.101-111, 2009.

ECCO, M.; ROSSET, J.S.; RAMPIM, L.; COSTA, A.C.T.; LANA, M.C.; STANGARLIN, J.R.; SARTO, M.V.M. Características agronômicas de híbridos de milho segunda safra submetidos à aplicação de fungicida. **Revista Agrarian**, Dourados, v.7, n.26, p.504-510, 2014.

FREIRE, F.C.O.; VIEIRA, I.G.P.; GUEDES, M.I.F.; MENDES, F.N.P. **Micotoxinas: importância na alimentação e saúde humana e animal**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 48p.

GOTT, R.M.; AQUINO, L.A.; CARVALHO, A.M.X.; SANTOS, L.P.D.; NUNES, P.H.M.P.; COELHO, B.S. Índices diagnósticos para interpretação de análise foliar do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.11, p.1110-1115, 2014.

HAMERSCHMIDT, I.; TOLEDO, M.V.; POPIA, A.F.; ASSIS, O. **Manual de olericultura orgânica**. Curitiba: Emater, 2012. 129p.

KARAN, D.; MAGALHÃES, P.C. **Eficiência nas cadeias produtivas e o abastecimento global**. 21. ed. Salvador: ABMS, 2014. 411p.

KIRKBY, E.A.; ROMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: Funções, absorção e mobilidade**. International Plant Nutrition Institute. Encarte Técnico, n.118, 24p., 2007.

KOEHLER, B. Natural mode of entrance of fungi into maize ears and some symptoms that indicate infection. **Journal Agricultural Research**, Washington, DC, v.64, n.8, p. 421-442, 1942.

LANZA, F.E.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R.V.; SILVA, D.D.; QUEIROZ, V.A.V.; PARREIRA, D.F.; MENDES, S.M.; SOUZA, A.G.C.; COTA, L.V. Aplicação foliar de fungicidas e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.51, n.5, p.638-646, 2016.

LEITE, B.; STANGARLIN, J.R. Fisiologia e bioquímica de doenças fúngicas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, v.1, p.115-152, 2008.

LIMA, L.M.; POZZA, E.A.; TORRES, H.N.; POZZA, A.A.A.; SALGADO, M.; PFENNING, L.H. Relação nitrogênio/potássio com mancha de Phoma e nutrição de mudas de cafeeiro em solução nutritiva. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.35, p.223-228, 2010.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Circular Técnica 76 - Fisiologia da Produção de Milho. In: BARBOSA, T. M. A. (Ed.). **Circulares Técnicas Embrapa**. 1. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. v.1, p.10.

MALAVOLTA, E. **O futuro da nutrição de plantas tendo em vista aspectos agronômicos, econômicos e ambientais**. Informações agronômicas. International Plant Nutrition Institute. n.121, 2008. Disponível em: <[https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/\\$file/jornal-121.pdf](https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/$file/jornal-121.pdf)> Acesso em: 24/03/2017.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p., 1997.

MANFROI, E.; LANGHINOTTI, C.; DANELLI, A.; PARIZE, G. Controle químico de doenças foliares e rendimento de grãos na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.15, n.2, p.357-365, 2016.

MARCONDES, M. M.; FARIA, M. V.; MENDES, M. C.; OLIVEIRA, B. R.; SANTOS, J. F.; CAVALLIN, I.; WALTER, A. L. B. Desempenho agrônômico de linhagens S4 de milho em cruzamentos top crosses. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.14, n.1, p.145-154, 2015.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. New York: Academic Press, 3. ed. London: Elsevier, 643p. 2012.

MEDEIROS, F.H.V.; SILVA, J.C.P.; PASCHOLATI, S.F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios de conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 261-274.

MORALES, R.G.F.; SANTOS, I.; TOMAZELI, V.N. Influência da nutrição mineral foliar sobre doenças da parte aérea da cultura do trigo. **Revista Ceres**, Viçosa, v.59, n.1, p.71-76, 2012.

MORANDI, M.A.B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.7-14, 2009.

MOTTER, A.; GIONGO, L.; ROSSONO, M.E.; MENEGHETTI, M.L.; MATOS, R.E.; OLIVEIRA, R.C. Nutrição mineral e a incidência de patógenos em plantas. In: VIECELLI, C.A.; MOREIRA, G.C.; OLIVEIRA, R.C.; SIMONETTI, A.P.M.M.; SANTOS, R.F. **Nutrição mineral e a incidência de doenças em plantas**. Cascavel: ASSOESTE, p.15-30, 2012.

NEGA, A.; LEMESSA, F.; BERECHA, G. Distribution and Importance of Maize Grey Leaf Spot *Cercospora zea-maydis* (Tehon and Daniels) in South and Southwest Ethiopia. **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, Brussels, v.7, n.7, p.362, 2016.

ORO, O.; SILVA, C.A.T.; DIAS-ARIEIRA, C.R. Indução de resistência a doenças na cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.1, n.1, p.148-154, 2012.

PASCHOLATI, S.F.; MELO, T.A.; BRAND, S.C.; REZENDE, D.C.; NOGUEIRA JÚNIOR, A.F.; SILVA JÚNIOR, M.B.; RESENDE, M.L.V. Indução de resistência no controle de fitopatógenos: registro de indutores e uso comercial no Brasil. In: SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SILVA, C.M.; MAIA, A.J.; FARIA, C.M.D.R.; COLELLA, J.C.T. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Maringá: UEM/MPA, p.233-253, 2014.

RAMATHANI, I.; BIRUMA, M.; MARTIN, T.; DIXELIUS, C.; OKORI, P. Disease severity, incidence and races of *Setosphaeria turcica* on sorghum in Uganda. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 131, p. 383-392, 2011.

SILVA JÚNIOR, G.J.; BEHLAU, F. Controle químico. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p.239-260.

VIECELLI, C.A. **Guia de deficiências nutricionais em plantas**. Toledo: ASSOESTE, 112p., 2017.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Mecanismo de ação do cálcio na interação com doenças de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZENÃO JÚNIOR, L.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa Departamento de fitopatologia, v.1, 2012a. p.137-163.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Mecanismos gerais dos nutrientes sobre a severidade de doenças de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZENÃO JÚNIOR, L.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa Departamento de fitopatologia, v.1, 2012b. p.25-45.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Mecanismos de ação de micronutrientes na interação com doenças de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZENÃO JÚNIOR, L.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa Departamento de fitopatologia, v.1, 2012c. p.199-236.

ZANÃO JÚNIOR, L.A. Importância e função dos nutrientes no crescimento e desenvolvimento de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZENÃO JÚNIOR, L.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa Departamento de fitopatologia, v.1, 2012. p. 3-21.

3 CAPÍTULO 2: GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE *Puccinia sorghi*, *Cercospora* sp. E *Exserohilum turcicum* EM QUELATOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO

Resumo – Devido ao impacto ambiental gerado pelo uso indiscriminado de fungicidas, buscase novas alternativas para o controle das doenças, como a utilização de nutrientes, os quais podem inibir o desenvolvimento de patógenos ou diminuir a suscetibilidade da planta a doenças. O objetivo foi verificar se produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco inibem a germinação de esporos de *Puccinia sorghi*, *Cercospora* sp. e *Exserohilum turcicum*. Foram realizados dois ensaios: o primeiro com meio de cultura ágar-água, onde os tratamentos e os esporos foram colocados no mesmo momento; e o segundo utilizando folhas de milho como substrato, onde os tratamentos foram administrados zero, uma, duas, três, quatro e cinco horas após os esporos serem adicionados. Utilizaram como tratamentos produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco na forma de quelato, fungicida (estrobilurina + triazol) e água destilada. Realizou-se a contagem dos esporos 24 horas após a aplicação dos tratamentos. Para o primeiro ensaio, os quelatos apresentaram, em média, redução de 39%, tanto na germinação de esporos de *P. sorghi* quanto de *Cercospora* sp.. Para o segundo ensaio, os mesmos patógenos tiveram redução média de 52%, 59%, 77%, 87%, 81% e 64% para *P. sorghi* e 40%, 33%, 17%, 18%, 4% e 2% para *Cercospora* sp., nos tempos, zero, 1, 2, 3, 4 e 5 horas após o tratamento, respectivamente. Para *E. turcicum* não houve efeito inibitório dos quelatos. Assim, conclui-se que os metais na forma de quelato testados apresentam atividade antifúngica contra *P. sorghi* e *Cercospora* sp.

Palavras-chave: Controle alternativo. Nutrientes. Quelatos. *Zea mays* L.

GERMINATION OF *Puccinia sorghi*, *Cercospora* sp. AND *Exserohilum turcicum* SPORES IN CALCIUM, COPPER, MANGANESE AND ZINC CHELATES

Abstract – Due to the environmental impact generated by the use of fungicides, new alternatives for disease control have been arising, such as the use of nutrients that may act on the development of certain pathogens or decrease the host susceptibility to diseases. The objective was to verify if chelates of calcium, copper, manganese and zinc inhibit the germination of *Puccinia sorghi*, *Cercospora* sp. and *Exserohilum turcicum* spores. Two tests were carried out, the first one with water-agar medium, where treatments and spores were

placed at the same time, and the second using corn leaves as substrate, where the treatments were sprayed zero, one, two, three, four and five hours after the spores are added. Calcium, copper, manganese and zinc in the form of chelate, fungicide (strobilurin and triazole) and distilled water were used as treatments. The spores were counted 24 hours after the application of the treatments. For the first assay, chelates showed an average reduction of 39% in both germination of *P. sorghi* and *Cercospora* sp. spores. For the second assay, the same pathogens had a mean reduction of 52%, 59%, 77%, 87%, 81% and 64% for *P. sorghi* and 40%, 33%, 17%, 18%, 4% and 2% for *Cercospora* sp., both at zero, 1, 2, 3, 4 and 5 hours after treatment, respectively. *E. turcicum* had no inhibitory effect under treatments. Thus, it was concluded that metal-chelates tested were fungitoxics to *P. sorghi* and *Cercospora* sp. spores.

Keywords: Alternative control. Nutrients. Chelates. *Zea mays* L.

3.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo (GALVÃO et al., 2014), e o incremento de produção desta cultura é devido a antecipação da semeadura e aumento do cultivo de segunda safra, fatores que também contribuem para o surgimento de novos problemas fitopatológicos (COSTA et al., 2010) que limitam a produtividade (LANZA et al., 2016), fazendo com que o manejo das doenças seja imprescindível para alcançar rendimentos elevados e maior lucro (ROSA et al., 2017).

O milho é atingido por um grande número de doenças como ferrugem, cercosporiose e mancha foliar de *Exserohilum* (TROJAN; PRIA, 2018).

Dentre as ferrugens, a ferrugem-comum (*Puccinia sorghi*) é a mais importante na região sul, sendo favorecida por umidade relativa alta e temperaturas baixas. Como sintomas desta doença tem-se o aparecimento de pústulas elípticas e alongadas, que evoluem para uma coloração escura devido ao desenvolvimento de teliósporos. Esse patógeno também atinge o trevo do gênero *Oxalis*, aumentando o inóculo para a cultura do milho (DUDIENAS et al., 2011).

A cercosporiose é uma das mais importantes doenças do milho, sendo causada por várias espécies (*Cercospora zea-maydis*, *C. zeina* e *C. sorghi* f. sp. *maydis*). Os sintomas são lesões verde-oliva a necróticas, limitadas pelas nervuras e com formato retangular. As condições ideais para o desenvolvimento da doença são elevada umidade e temperatura entre 22 e 30 °C (ENGELSING et al., 2011; CARVALHO et al., 2016). Quanto à mancha foliar de *Exserohilum*,

o agente causal é *Exserohilum turcicum* que, em condições ideais de alta umidade e temperatura entre 18 e 27 °C, apresenta lesões elípticas e necróticas (DE ROSSI; REIS; BRUSTOLIN, 2015).

A ocorrência destas e outras doenças na cultura no milho demanda maior uso de fungicidas nas lavouras (SCHUMACHER et al., 2017), os quais podem aumentar a poluição ambiental e representar risco para a saúde humana e animal se utilizados de maneira não adequada.

No intuito de diminuir o uso de produtos químicos, e sabendo que o milho é uma cultura exigente em nutrientes (OLIVEIRA et al., 2013) e que o equilíbrio nutricional é considerado importante fator no controle de doenças (MORALES et al., 2012), produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco podem contribuir em processos fisiológicos na planta, melhorando a resistência das mesmas a patógenos, bem como podem possuir ação tóxica direta sobre os fitopatógenos.

O objetivo deste trabalho foi verificar se produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco são capazes de inibir a germinação de esporos dos agentes causais da ferrugem comum, cercosporiose e mancha foliar de *Exserohilum*, em meio de cultura e em folhas de milho em diferentes tempos de aplicação.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em dois ensaios, sendo o primeiro para verificar se os produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco têm ação sobre a germinação de esporos de forma direta sobre meio de cultura ágar-água 1%, e o segundo buscando encontrar o tempo de absorção dos produtos e sua ação na folha de milho inoculada com os patógenos.

Para a obtenção da suspensão de esporos em ambos os ensaios, foram utilizadas folhas de trevo contendo lesões de ferrugem-comum (*Puccinia sorghi*), e com um auxílio de um pincel, os uredósporos foram coletados e colocados em água destilada estéril contendo 0,6% de Tween 80 (espalhante adesivo).

Para a cercosporiose e a mancha foliar de *Exserohilum*, foi realizado o isolamento indireto dos patógenos a partir de folhas de milho naturalmente infectadas, e posteriormente, os patógenos foram mantidos em meio de cultura. Para a cercosporiose, utilizou-se o meio de cultura batata, dextrose e ágar (BDA), enquanto que *E. turcicum* foi cultivado em meio de sementes de sorgo. Para obtenção da suspensão de esporos para ambos os patógenos, realizou-se a lavagem do meio de cultura com água destilada estéril contendo 0,6% de Tween 80.

Utilizando câmara de Neubauer determinou-se a quantidade de esporos e a suspensão foi calibrada para atingir concentração próxima a 7×10^4 esporos mL^{-1} para os três patógenos.

Para a realização do primeiro ensaio utilizou-se caixas plásticas do tipo Gerbox® contendo três folhas de papel de filtro germiteste umedecido com água destilada, e sobre cada papel, acondicionou-se dois palitos de churrasco esterilizados cortados de forma que coubessem dentro do Gerbox® (10 cm). Sobre os palitos, foram acomodadas quatro lâminas de microscopia revestidas com uma fina camada de cerca de 1 mL de ágar-água a 1%.

Para o segundo ensaio também se utilizou essa mesma estrutura, porém, as lâminas de microscopia receberam um pedaço de folha de milho limpas com água destilada apresentando aproximadamente 4 cm^2 , sendo tais folhas coletadas a campo, quando as plantas estavam no estágio fenológico R1, e todas encontravam-se livres de qualquer lesão.

Para ambos os ensaios, utilizou-se como tratamento produtos à base de cálcio, cobre, manganês, zinco e fungicida nas doses recomendadas pelos fabricantes, e como testemunha utilizou-se água destilada. Os produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco possuíam 15%, 5%, 15% e 10% do nutriente na forma de quelato de aminoácido, respectivamente. Por serem 100% quelatados a partir de aminoácidos naturais, a absorção, transporte e metabolismo dos nutrientes é considerada rápida segundo o fabricante. Como fungicida utilizou-se produto a base de azoxistrobina 20% e ciproconazol 8% na dose de $3,0^{-6} \text{ mL cm}^2$, a base de estrobilurina e triazol + propiconazol 25% na dose de $4,0^{-6} \text{ mL cm}^2$, a base de triazol.

No primeiro ensaio, 100 μL dos tratamentos, corrigidos para se manter as concentrações indicadas anteriormente, foram colocados sobre o meio de cultura ágar-água utilizando pipeta e em seguida, depositou-se 40 μL da suspensão de esporos.

Para o segundo ensaio, os tratamentos foram aplicados nas folhas de milho utilizando borrifadores, na quantidade de 0,1 mL por folha, para simular a aplicação de campo. Sobre cada folha, depositou-se 40 μL da suspensão de esporos em tempos distintos, sendo primeiramente realizado o tratamento e em seguida adicionada a suspensão de esporos, considerado esse momento como tempo zero. Posteriormente, 1, 2, 3, 4 e 5 horas após os tratamentos, foram feitas novas inoculações dos patógenos.

Em ambos ensaios, os Gerbox® permaneceram no escuro a 25°C por 24 horas, a reação foi parada com corante azul algodão e em seguida realizou-se a contagem dos esporos germinados. Foram considerados como germinados os esporos que possuíam o comprimento do tubo germinativo maior que duas vezes o diâmetro do esporo. A porcentagem de esporos germinados foi determinada em microscópio pela contagem aleatória dos 100 primeiros esporos

encontrados sobre o ágar-água no caso do primeiro ensaio, e da folha de milho no caso do segundo ensaio.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento e os dados foram submetidos a análise de variância e ao teste de médias Tukey a 5% de probabilidade de erro, através do software livre GENES (CRUZ, 2016).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o primeiro ensaio, em que se utilizou meio de cultura ágar-água como superfície para os esporos de *P. sorghi*, os tratamentos fungicidas e cobre apresentaram maior inibição da germinação de esporos, sendo este estatisticamente diferente dos tratamentos cálcio, manganês, zinco e água. Cálcio, manganês e zinco apresentaram porcentagem de germinação inferior a água e superior ao cobre e ao fungicida. O tratamento testemunha água apresentou maior quantidade de esporos germinados, diferindo de todos os demais tratamentos (Figura 1A).

Para *Cercospora* sp., no primeiro experimento a maior e a menor porcentagem de germinação dos esporos ocorreram nos tratamentos água e fungicida respectivamente, sendo ambos diferentes dos demais tratamentos com os nutrientes. Os tratamentos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco foram iguais estatisticamente entre si, com valores de inibição intermediários entre fungicida e água (Figura 1B).

Para o primeiro experimento utilizando esporos de *E. turcicum*, o fungicida apresentou menor número de esporos germinados, sendo este estatisticamente diferente dos demais tratamentos (Figura 1C). Não houve diminuição da germinação dos esporos com a utilização dos quelatos de cálcio, cobre, manganês e zinco, o que confirma a hipótese de que os produtos se comportam de maneira diferente dependendo do patógeno.

Este resultado demonstra eficácia dos quelatos na diminuição da germinação de esporos de *Cercospora* sp., assim como ocorreu para os esporos de *P. sorghi*, porém, sem o mesmo forte efeito inibitório apresentado pelo cobre contra o patógeno da ferrugem comum do milho.

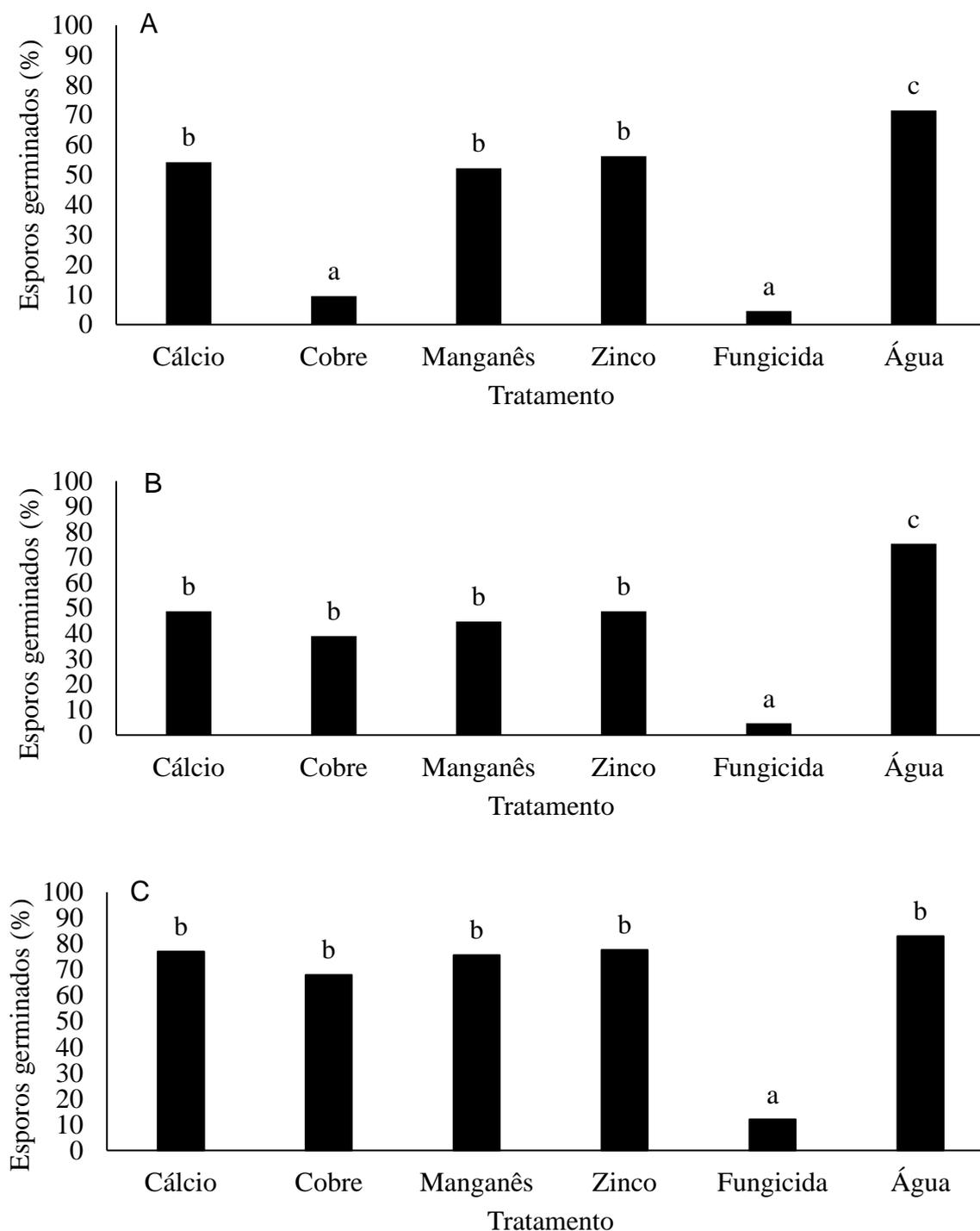


Figura 1. Porcentagem de esporos de *Puccinia sorghi* (A), *Cercospora* sp. (B) e *Exserohilum turcicum* (C), germinados em meio de cultura ágar-água 1% contendo produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco quelatados com aminoácidos. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV (%): 11,33 (A), 17 (B), 10,12 (C).

Para o segundo ensaio em que se utilizou folha de milho e a inoculação foi realizada em diferentes tempos (zero, 1, 2, 3, 4 e 5 horas após os tratamentos), os resultados foram apresentados em gráficos distintos de acordo com o tempo (Figuras 2, 3 e 4).

Para *P. sorghi* no tempo zero, ou seja, tratamento e esporos colocados no mesmo momento, o fungicida apresentou a menor porcentagem de esporos germinados, diferindo dos tratamentos cobre, manganês, zinco e da testemunha água (2A), mas não diferindo do tratamento com cálcio. No tempo 1 hora, novamente o fungicida apresentou melhores resultados, diferindo do cálcio, cobre, zinco e água, mas não diferindo do manganês. Os tratamentos cálcio, cobre, manganês e zinco apresentaram valores de germinação inferior aos da água (2B).

De acordo com a Figura 2C, pode-se verificar a menor porcentagem de germinação de esporos para os tratamentos fungicida, manganês e cobre que diferiram do tratamento zinco e da testemunha água, isso quando os esporos foram adicionados 2 horas após os tratamentos.

Para o momento em que a inoculação ocorreu 3 horas após o tratamento (2D) e 4 horas após o tratamento (2E), não houve diferença entre os tratamentos cálcio, cobre, manganês, zinco e fungicida. Quando os esporos foram colocados 5 horas após os tratamentos, o fungicida apresentou novamente a maior inibição da germinação de uredósporos, sendo a porcentagem igual ao tratamento manganês (2F). Em todos os tempos avaliados, a testemunha água diferiu dos demais tratamentos, apresentando sempre, a maior porcentagem de esporos de *P. sorghi* germinados.

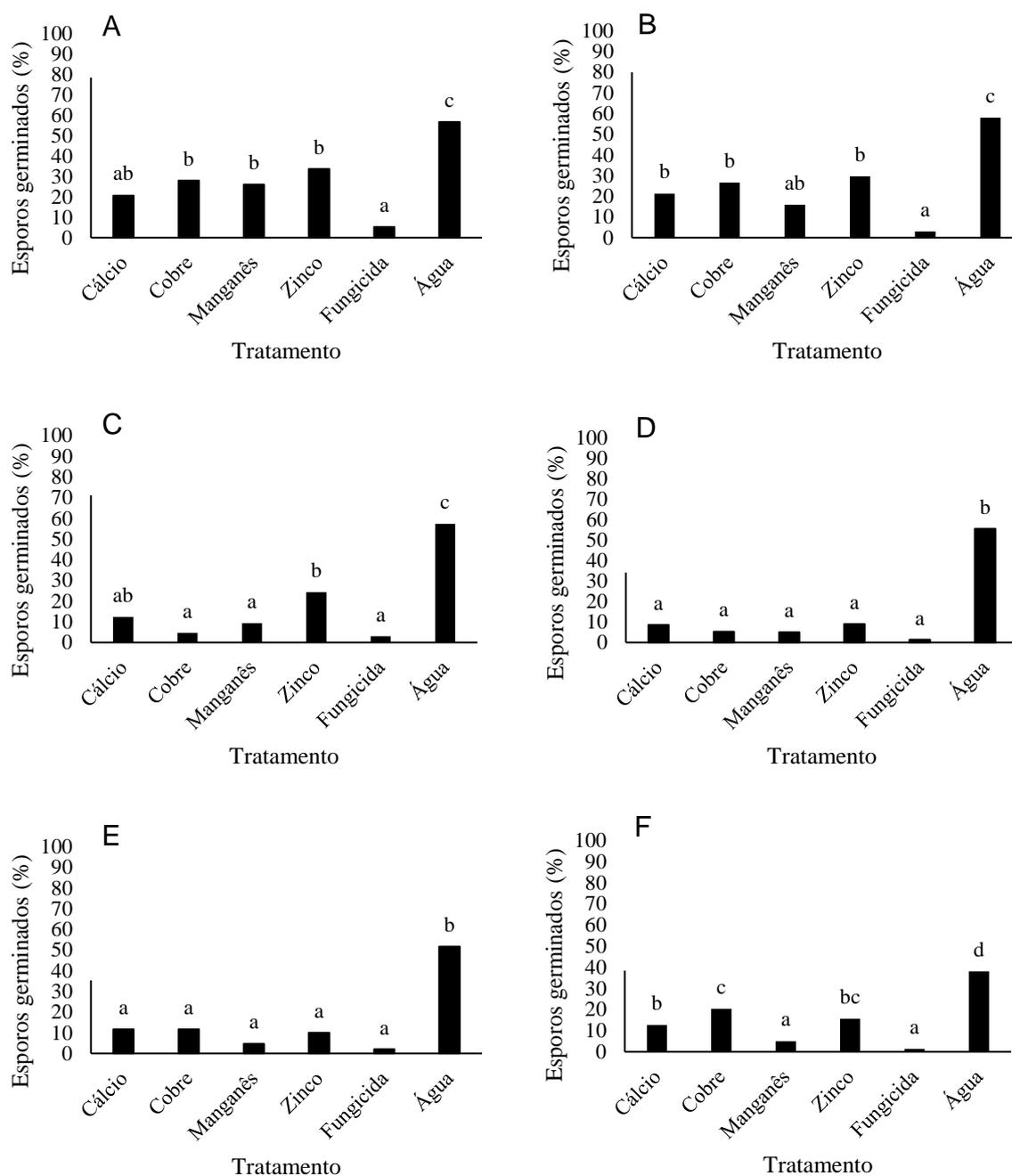


Figura 2. Porcentagem de esporos de *Puccinia sorghi* germinados sobre folha de milho tratada com produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco quelatados com aminoácidos. A inoculação do patógeno ocorreu no mesmo momento do tratamento (tempo zero horas) (A), 1 hora (B), 2 horas (C), 3 horas (D), 4 horas (E), ou 5 horas (F) após os tratamentos. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV (%): 25,61 (A), 19,00 (B), 26,86 (C), 23,66 (D), 25,17 (E) e 14,76 (F).

Tomando como base o tempo entre os tratamentos e a chegada dos esporos de *P. sorghi* pode-se verificar que para os tratamentos cálcio, cobre, manganês e zinco, houve diminuição mais acentuada da germinação dos uredósporos quando estes foram adicionados 2 e 3 horas após o tratamento, sendo estes valores mais baixos de esporos germinados mantidos nos tempos 3 horas e 4 horas. A partir do tempo 4 horas, com exceção do tratamento manganês, os demais tenderam a perder sua eficácia devido ao aumento dos esporos germinado no tempo 5 horas. O tratamento fungicida manteve seus níveis basais de germinação de esporos durante todos os tempos avaliados, apresentando efeito tóxico constante.

Uma possível justificativa para os resultados observados seria que no ambiente das folhas, a variação da porcentagem de esporos germinados pode ter ocorrido pelo fato dos produtos terem ativado a produção e liberação de algum composto pela planta, o qual teria ação sobre a germinação dos esporos, visto que podem ser facilmente absorvidos pelas células agindo no interior da folha. Pode ser também que uma certa quantidade dos produtos permaneça na superfície da folha o que contribuiu para a diminuição do número de esporos germinados pelo efeito fungitóxico direto, como demonstrado no primeiro ensaio em meio ágar-água. Neste ensaio, o cobre apresentou o maior efeito tóxico aos esporos de *P. sorghi*.

O cobre melhora a lignificação da parede celular e, além disso, Malavolta et al. (1997) relatam a possível ação deste elemento no processo de defesa das plantas, induzindo resistência. Concernente à ação direta sobre o patógeno, o cobre é prontamente acumulado pela célula fúngica e forma complexos com enzimas que possuem grupos sulfidrílica, hidroxila, amino ou carboxila, inativando-as, desorganizando assim o metabolismo e a integridade do esporo ou da hifa (REIS et al., 2010).

De acordo com Yamamoto et al. (2011) o cálcio é essencial para que ocorra a estabilidade das biomembranas e segundo Morales et al. (2012) os micronutrientes, como cobre e manganês são importantes por influenciar na síntese de lignina e fenóis simples.

O cálcio pode agir sobre enzimas produzidas por patógenos, principalmente as pectolíticas, como as poligalacturonases, as quais são utilizadas no momento da penetração e colonização, podendo assim, favorecer a planta (MORALES et al., 2012). Além disso, o cálcio tem papel fundamental na estruturação e composição bioquímica da célula vegetal, especialmente da parede celular e da membrana plasmática (WHITE; BROADLEY, 2003), acentuando a resistência do hospedeiro ao patógeno. Adicionalmente, íons de cálcio podem inibir diretamente o crescimento fúngico, reduzir a produção de etileno e atuar como sinalizador de mecanismos de defesa relacionados às variações dos níveis de cálcio nas células vegetais ou

indiretamente à formação do complexo cálcio-calmodulina responsável por modular processos fisiológicos de resposta da planta a estresses bióticos (BEDENDO et al., 2018).

O manganês também pode estar relacionado com a indução de resistência, ativando várias enzimas da via do ácido chiquímico e vias subsequentes, levando à biossíntese de aminoácidos aromáticos e produtos secundários como lignina e flavonóides (CARVALHO et al., 2015).

Para o zinco, existem evidências de que este mantém a integridade da membrana (OHSE et al., 2012), tendo, portanto, ação nos mecanismos de defesa da planta, o que pode ter ocorrido nos resultados apresentados na Figura 2 (A B C D eF para *Puccinia sorghi*).

Para o segundo experimento com esporos de *Cercospora* sp., no tempo zero, o fungicida apresentou a menor porcentagem de esporos germinados, diferindo de todos os demais tratamentos. Os tratamentos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco foram estatisticamente iguais diferindo tanto da água quanto do fungicida (Figura 3A).

No tempo 1 hora, quando os esporos foram inoculados 1 hora após os tratamentos, novamente o fungicida apresentou melhores resultados, diferindo de todos os demais. O cálcio, cobre, manganês e o zinco diferiram tanto da água quanto do fungicida, apresentando valores intermediários de esporos germinados (Figura 3B).

Nas Figuras 3C e 3D, nos tempos 2 e 3 horas, pode-se verificar que novamente os tratamentos cálcio, cobre, manganês e zinco apresentaram valores intermediários de germinação de esporos, assim como ocorreu no tempo zero, onde estes diferiram estatisticamente tanto da água quanto do fungicida. Já nos tempos 4 e 5 horas após os tratamentos (Figuras 3E e 3F, respectivamente), apenas o fungicida inibiu a germinação dos conídios de *Cercospora* sp.

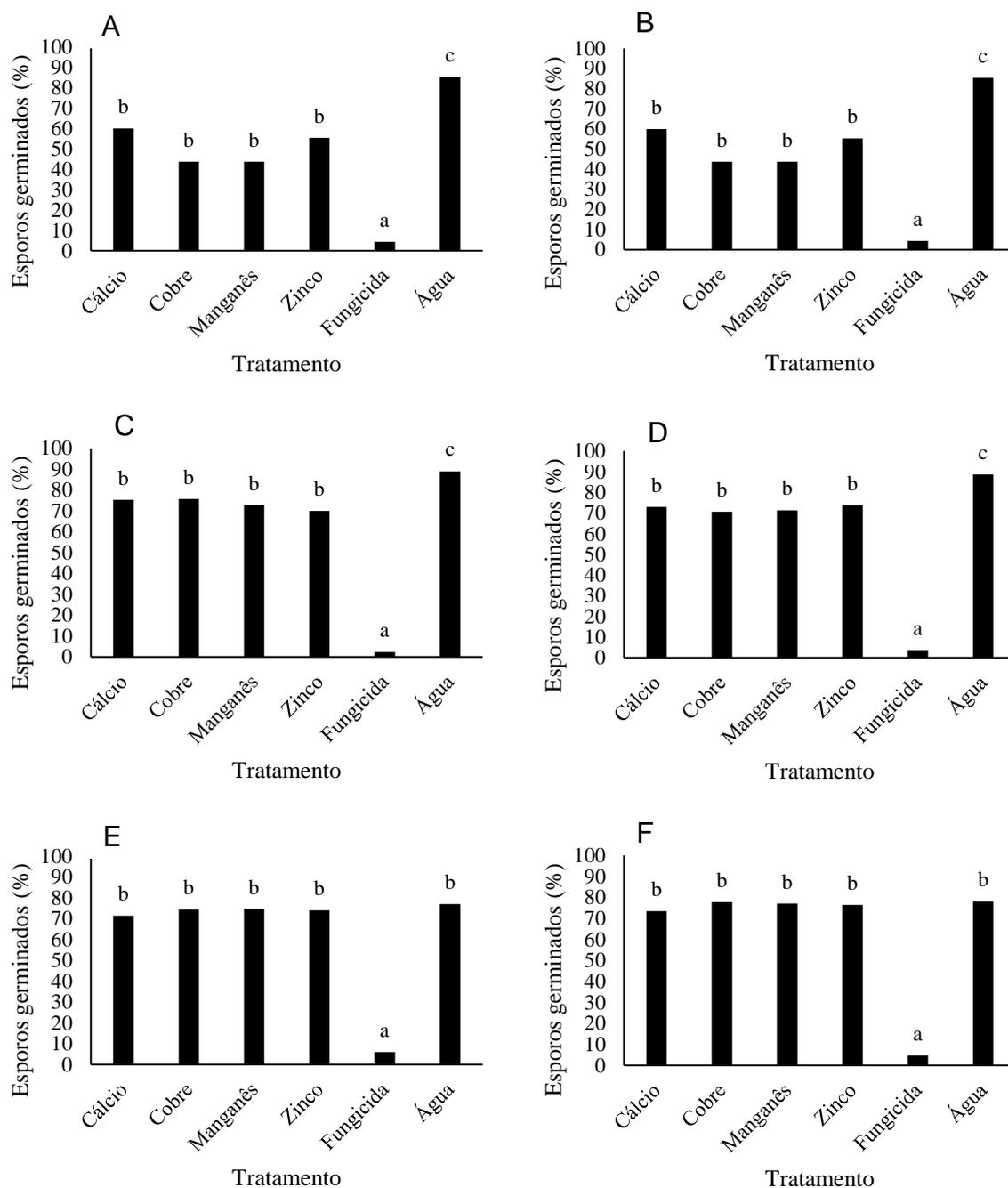


Figura 3. Porcentagem de esporos de *Cercospora* sp. germinados sobre folha de milho tratada com produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco quelatados com aminoácidos. A inoculação do patógeno ocorreu no mesmo momento do tratamento (tempo zero horas) (A), 1 hora (B), 2 horas (C), 3 horas (D), 4 horas (E), ou 5 horas (F) após os tratamentos. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV (%): 15,40 (A), 14,89 (B), 5,35 (C), 7,23 (D), 8,49 (E) e 5,99 (F).

Para *Cercospora* sp. aparentemente os tratamentos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco apresentaram ação tóxica, impedindo a germinação dos esporos quando aplicados junto, 1, 2 e 3 horas após os tratamentos, sendo que nos tempos posteriores, ou seja, 4 e 5 horas após os tratamentos, a germinação dos conídios foi a mesma que a água. Isso pode ter ocorrido porque a partir das 4 horas os produtos, ou parte deles, já haviam sido absorvidos pela planta, o que diminuiu o efeito tóxico direto. Deve-se considerar, no entanto, que esse provável efeito fungitóxico direto foi maior para os uredósporos de *P. sorghi* do que para os conídios de *Cercospora* sp., conforme observado no ensaio em ágar-água (Figuras 1A e 1B), principalmente com relação ao cobre.

Para *E. turcicum*, da mesma maneira que observado no ensaio em ágar-água, os tratamentos cálcio, cobre, manganês e zinco não apresentaram efeito inibitório sobre a germinação de conídios deste patógeno para todos os tempos avaliados, diferentemente do observado para o tratamento fungicida (Figura 2).

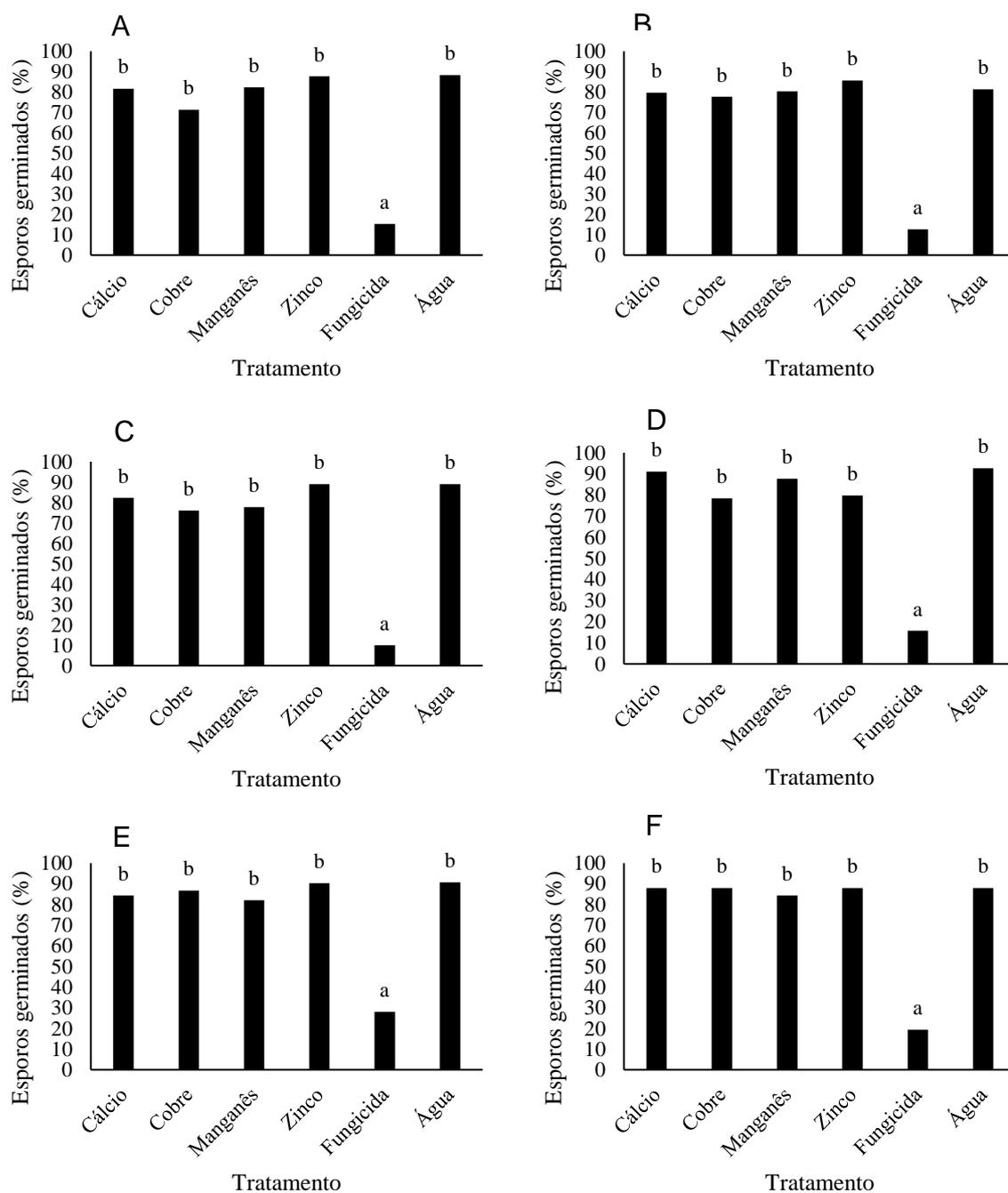


Figura 4. Porcentagem de esporos de *Exserohilum turcicum* germinados sobre folha de milho tratada com produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco quelatados com aminoácidos. A inoculação do patógeno ocorreu no mesmo momento do tratamento (tempo zero horas) (A), 1 hora (B), 2 horas (C), 3 horas (D), 4 horas (E), ou 5 horas (F) após os tratamentos. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV (%): 15,19 (A), 7,28 (B), 15,46 (C), 9,94 (D), 7,87 (E) e 7,46 (F).

Os fungos possuem necessidades nutricionais para sobrevivência consideradas simples, sendo importante o uso de macronutrientes em concentrações milimolares e micronutrientes em concentrações micromolares. Dentre os elementos necessários pode-se citar cálcio, cobre, manganês e zinco requeridos também no crescimento das células fúngicas (WALKER; WHITE, 2017).

Esses nutrientes apresentam diferentes funções celulares, sendo o cálcio possível mensageiro secundário na transdução de sinais, o cobre está presente em pigmentos redutores, e o manganês e o zinco possuem funções na atividade enzimática. Portanto, esses compostos são ocasionalmente necessários para atividades enzimáticas ou estruturais específicas dos fungos (WALKER; WHITE, 2017). Assim, pode ser que alguns patógenos fúngicos consigam realizar a absorção desses nutrientes utilizando-os a seu favor e, por isso, não houve diminuição da germinação de esporos. Segundo Griffin (1994), o cálcio, por exemplo, é um elemento com função na atividade de algumas enzimas e na estrutura da membrana fúngica, não sendo necessário para todos os fungos, mas requerido em inúmeros processos de nível bioquímico em maior ou menor necessidade, dependendo do gênero do fungo.

Levando em consideração que dependendo das condições, os patógenos podem realizar a absorção em diferentes períodos de tempo, pode ser que inicialmente, ou seja, quando o produto e o patógeno foram colocados juntos ou em um intervalo de tempo pequeno, o patógeno apresentou maior germinação de esporos devido a presença dos nutrientes, sendo essa germinação diminuída no momento em que a folha absorveu o produto. Outro possível fato seria a dosagem requerida pelos patógenos, pois pode ser que a quantidade de nutriente tenha sido negativa para ele, desfavorecendo sua germinação.

Em trabalho realizado por Morales et al. (2012) avaliando o efeito dos nutrientes nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, boro, cobre, manganês, molibdênio, zinco e cálcio sobre doenças no trigo, a severidade da mancha amarela foi reduzida devido a adubação foliar com os mesmos, enquanto que para a severidade de oídio, ferrugem e mancha da gluma não houve influência dos tratamentos.

Assim, tendo em vista que os patógenos possuem estratégias distintas para realizar a pré penetração e a penetração, pode ser que diferentes nutrientes tenham necessidade ou toxicidade distintas dependendo do patógeno, assim como verificado neste estudo.

3.4 CONCLUSÕES

Os produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco foram capazes de inibir a germinação de esporos de *P. sorghi* e *Cercospora* sp. não apresentando inibição para *Exserohilum turcicum*. Para *P. sorghi* todos os tempos apresentaram influencia com diminuição dos esporos germinados, para *Cercospora* sp. apenas os tempos zero, 1, 2 e 3 horas após o tratamento apresentaram influência sobre a germinação dos esporos e para *Exserohilum turcicum* os tempos não demonstraram influencia sobre a germinação.

3.5 REFERÊNCIAS

BEDENDO, I. P.; AMORIM, L.; MATTOS-Jr., D. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, p. 93-103, 2018.

BURNELL, J.N. The biochemistry of manganese in plants. In: **Manganese in soils and plants**. Springer, Dordrecht, 1988. p. 125-137.

CARVALHO, E.R.; OLIVEIRA, J.A.; REIS, L.V.; FERREIRA, T.F. Mn foliar sobre a qualidade sanitária e lignina de sementes de soja convencional e resistente ao glifosato. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.46, n.1, p.135-143, 2015.

CARVALHO, R.V.; PEREIRA, O.A.P.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v. 2, p. 549-560, 2016.

COSTA, R.V.; SILVA, D.D; COTA, L.V.; PARREIRA, D.F.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C.R. Incidence of *Colletotrichum graminicola* in stalk from maize genotypes. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.2, p.122-128, 2010.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.38, n.4, p.547-552, 2016.

DE ROSSI, R.L.; REIS, E.M.; BRUSTOLIN, R. Conidial morphology and pathogenicity of *Exserohilum turcicum* isolates of corn from Argentina and Brazil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.41, n.1, p.58-63, 2015.

DUDIENAS, C.; FANTIN, G.M.; DUARTE, A.P.; TICELLI, M.; BÁRBARO, I.M.; FREITAS, R.S.; LEÃO, P.C.L.; CAZENTINI FILJO, G.; BOLONHEZI, D.; PÂNTANO, A.P. Severidade de ferrugem polissora em cultivares de milho e seu efeito na produtividade. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.39, n.1, p.16-23, 2013.

ENGELSING, M.J.; ROZZETTO, D.S.; COIMBRA, J.L.M.; ZANIN, C.G.; GUIDOLIN, A.F. Capacidade de combinação em milho para resistência a *Cercospora zea-maydis*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.42, n.1, p.232-241, 2011.

GALVÃO, J.C.C.; MARANDA, G.V.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, Suplemento, p.819-828, 2014.

GRIFFIN, D.H. **Fungal physiology**. Wiley Science paperback series. 2 ed. New York, NY: United States of America. 1994. 472 p.

KIRKBY, E.A.; ROMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: Funções, absorção e mobilidade funções, absorção e mobilidade. **International Plant Nutrition Institute**. Encarte Técnico n.118, 24p., 2007.

LANZA, F.E.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R.V DA; SILVA, D.D.; QUEIROZ, V.A.V.; PARREIRA, D.F.; MENDES, S.M.; SOUZA, A.G.C.; COTA, L.V. Aplicação foliar de fungicidas e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 638-646, 2016.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 319p., 1997.

MORALES, R.G.F.; SANTOS, I.; TOMAZELI, V.N. Influência da nutrição mineral foliar sobre doenças da parte aérea da cultura do trigo. **Revista Ceres**, Viçosa, v.59, n.1, p.71-76, 2012.

OHSE, S.; REZENDE, B.L.A.; LISIK, D.; OTTO, R.F. Germinação e vigor de sementes de melancia tratadas com zinco. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.34, n.2 p.282-292, 2012.

OLIVEIRA, P.; NASCENTE, A.S.; KLUTHEOUSKI, J.; PORTES, T.A. Crescimento e produtividade de milho em função da cultura antecessora. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.43, n.3, p.239-246, 2013.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; CARMONA, M.A. **Manual de fungicidas** – guia para o controle químico de doenças de plantas. Passo Fundo: Editora da Universidade de Passo Fundo, 2010. 226p.

ROSA, W.B.; DUARTE JÚNIOR, J.B.; QUEIROZ, S.B.; PEREGO, I.; MATTEI, E. Desempenho agrônômico de cinco híbridos de milho submetidos à aplicação de fungicida em diferentes estádios fenológicos. **Revista Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.25, n.5, p.428-435, 2017.

SCHUMACHER, P.V.; ROSSATO, M.; COSTA NETTO, A.P.; D'ABADIA, A.C.A.; REIS, E.F. dos. Resposta de híbridos de milho ao uso de piraclostrobina na ausência de doenças. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.84, p.1-8, 2017.

TROJAN, D.G.; PRIA, M.D. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose da folha do milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.44, n.1, p.56-64, 2018.

WALKER, G.M.; WHITE, N.A. Introduction to fungal physiology. In: KAVANGH, K. **Fungi: biology and applications**. John Wiley & Sons, Third Edition, 2018.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, Oxford, v.92, p.487-511, 2003.

YAMAMOTO, E.L.M.; FERREIRA, R.M.A.; FERNANDES, P.L.O.; ALBUQUERQUE, L.B.; ALVES, E.O. Função do cálcio na degradação da parede celular vegetal de frutos. **Revista Verde**, Mossoró, v.6, n.2, p.49–55, 2011.

4 CAPÍTULO 3: CARACTERES AGRONÔMICOS E MANEJO DE DOENÇAS EM MILHO DE PRIMEIRA SAFRA POR PRODUTOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO

Resumo - O milho é um cereal cuja produtividade pode ser reduzida por diversas doenças foliares, o que tem preconizado tratamentos para controle. O objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade dos produtos quelatados à base de cálcio, cobre, manganês e zinco para manejo de *Pantoea ananatis* e *Phaeosphaeria maydis*, *Puccinia polysora*, *Cercospora zea maydis*, *Exserohilum turcicum*, *Diplodia macrospora* e *Pseudomonas avenae* em milho de primeira safra, bem como a interferência em caracteres agronômicos. Os tratamentos foram produtos comerciais quelatos de aminoácidos com os elementos cálcio 15%, cobre 5%, manganês 15% e zinco 10%, na dose de 0,5 kg ha⁻¹, 0,3 L ha⁻¹, 0,4 kg ha⁻¹ e 1 L ha⁻¹, respectivamente; um tratamento com fungicida (azoxistrobina 20% e ciproconazol 8% na dose de 0,3 L ha⁻¹ + propiconazol 25% na dose de 0,4 L ha⁻¹); e um tratamento com água. Os ensaios foram realizados em campo por dois anos consecutivos e em dois híbridos simples. Foram avaliados os caracteres agronômicos altura de plantas, diâmetro de colmo, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira da espiga, produtividade e massa de mil grãos, bem como a severidade das doenças foliares por meio de escala diagramática ou notas de severidade, sendo calculada a área abaixo da curva de progresso da doença, e realizou-se a análise química das folhas. Na safra 2016/2017, para as variáveis número de fileiras por espiga e número de grãos por fileiras o fungicida apresentou os maiores valores. Nessa mesma safra, para as variáveis massa de mil grãos e produtividade, os quelatos não diferiram do fungicida e foram diferentes da água. Na safra 2017/2018, para massa de mil grãos e produtividade apenas o fungicida mostrou-se diferente da água. Em ambas as safras, para a avaliação da severidade das doenças, não houve efeito significativo dos quelatos. Para todos os elementos estudados em ambos híbridos testados, não houve diferença no teor dos nutrientes antes e depois da aplicação foliar dos quelatos. Conclui-se que os produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco podem influenciar em caracteres agronômicos, mas não a severidade das doenças avaliadas em milho de primeira safra nos híbridos e nas condições edafoclimáticas em que o estudo foi realizado.

Palavras-chave: Controle alternativo. Nutrição e doença. Nutrientes. *Zea mays* L.

AGRONOMIC CHARACTERS AND DISEASES MANAGEMENT IN CORN TREATED WITH PRODUCTS BASED ON CALCIUM, COPPER, MANGANESE AND ZINC

Abstract – Corn is a cereal whose productivity can be reduced by several foliar diseases, which has recommended treatments for control. The aim of this work was to verify the capacity of chelated products based on calcium, copper, manganese and zinc for the management of *Pantoea ananatis* e *Phaeosphaeria maydis*, *Puccinia polysora*, *Cercospora zea maydis*, *Exserohilum turcicum*, *Diplodia macrospora* and *Pseudomonas avenae* and improvement of agronomic characters in corn. The treatments were commercial chelates of amino acids with the elements calcium 15%, copper 5%, manganese 15% and zinc 10%, at the doses of 0.5 kg ha⁻¹, 0.3 L ha⁻¹, 0.4 kg ha⁻¹ and 1 L ha⁻¹, respectively; a treatment with fungicide (20% azoxystrobin and 8% ciproconazole at the dose of 0.3 L ha⁻¹ + 25% propiconazole at the dose of 0.4 L ha⁻¹); and a treatment with water. The tests were carried out in field for two consecutive years and in two simple hybrids. The agronomic characters were: plant height, stalk diameter, number of rows per spike, number of grains per row, productivity and mass of one thousand grains, as well as the severity of leaf diseases. In the 2016/2017 season, for number of rows per spike and number of grains per rows the fungicide presented the highest values. In this same season for the variables grain mass and productivity the chelates did not differ from the fungicide and were different from the water. In 2017/2018 season for a thousand grain mass and yield, only the fungicide showed to be different from water. In both hybrids, there was no significant effect of the chelates on disease severities. For all the chelates in both hybrids, there was no difference in nutrient content before and after foliar application. It can be concluded that calcium, copper, manganese and zinc chelates may influence agronomic traits, but not the severity of the diseases evaluated in corn for the hybrids and in the edaphoclimatic conditions in which the study was carried out.

Keywords: Alternative control. Nutrition and plant disease. Nutrients. *Zea mays* L.

4.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura de elevada importância (GALVÃO et al., 2014) e de acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) (2019), o Brasil tornou-se o segundo maior exportador mundial de milho, com produção

superior a 98 milhões de toneladas com produtividade média de 5.609 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019). A cultura, no entanto, está exposta a fatores que limitam a máxima expressão de seu potencial produtivo, como por exemplo, a presença de patógenos (BRITO et al., 2013).

Os principais fitopatógenos encontrados em folhas de milho são *Cercospora zeaemaydis* (T. Daniels), complexo *Pantoea ananatis* e *Phaeosphaeria maydis* (P. Henn.), *Exserohilum turcicum* (Pass.), *Puccinia polysora* Underw, *Puccinia sorghi* Schw, e *Stenocarpella macrospora* (Earle) Sutton, agentes causais da cercosporiose, mancha branca, mancha foliar de *Exserohilum*, ferrugem polysora, ferrugem comum e mancha-de-diplodia, respectivamente (CARVALHO et al., 2016).

A fim de diminuir os prejuízos causados pelas doenças, busca-se a utilização de métodos para controle. O método químico com fungicidas é o mais utilizado, prático, e apresenta alta eficácia (MANFROI et al., 2016), porém, devido ao potencial de causar danos ao meio ambiente (MORANDI; BETTIOL, 2009) e à ação sobre organismos não alvo ou seleção de populações resistentes do patógeno, formas de controle denominadas alternativas (HAMERSCHMIDT et al., 2012), visando manter a ocorrência de fitopatógenos em níveis que não causem danos (BETTIOL, 2008) ou ativando mecanismos de defesa vegetal, tanto estruturais quanto bioquímicos, para desfavorecer o patógeno (STANGARLIN et al., 2011), tem sido estudadas.

Dentro dos métodos alternativos, pode-se citar o manejo com nutrientes, pois o estado nutricional dos vegetais é considerado um dos principais responsáveis pela defesa das plantas contra fitopatógenos (MOTTER et al., 2012), onde o equilíbrio nutricional pode alterar a composição química, morfológica, histológica (MARSCHNER, 2012), e a atividade microbiana da rizosfera das plantas (BEDENDO et al., 2018), diminuindo a predisposição das mesmas aos patógenos.

Diante do exposto, busca-se através deste estudo, verificar se quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco tem influência no manejo de doenças de parte aérea e nos caracteres agronômicos de dois híbridos simples de milho de primeira safra.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na primeira safra (safra de verão) de dois anos consecutivos (2016/2017 e 2017/2018), no distrito de Novo Sarandi, município de Toledo, Paraná, sob as coordenadas geográficas de 24°32'30" de latitude S e 53°54'32" de longitude O e altitude de

aproximadamente 386 m, onde o solo é de textura argilosa, originado do basalto e classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico (SANTOS et al., 2013).

Antes da implantação do experimento 2016/2017, foi coletado solo para análise química e física sendo que na safra seguinte, 2017/2018, novamente realizou-se a coleta de solo para análise química (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química e granulométrica (física) do Latossolo Vermelho Eutroférico antes da implantação dos experimentos

Safra 2016/2017								
Profundidade	H+Al	K	Al	Ca	Mg	SB	CTC	V
	cmol _c dm ⁻³							%
0 – 20 cm	7,20	0,23	0,34	4,60	1,11	5,94	13,14	45,21
Profundidade	C	P	pH	Fe	Mn	Cu	Zn	
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³				
0 – 20 cm	16,75	24,32	4,60	9,20	146,00	12,00	7,40	
Análise física (granulometria)								
Profundidade	Argila		Silte			Areia		
	g kg ⁻¹							
0 – 50 cm	662,5		162,5			175,0		
Safra 2017/2018								
Profundidade	H+Al	K	Al	Ca	Mg	SB	CTC	V
	cmol _c dm ⁻³							%
0 – 20 cm	4,46	0,31	0,00	10,27	3,13	13,71	18,17	75,46
Profundidade	C	P	pH	Fe	Mn	Cu	Zn	
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³				
0 – 20 cm	21,33	23,53	5,14	17,10	57,50	17,20	9,00	
Análise física (granulometria)								
Profundidade	Argila		Silte			Areia		
	g kg ⁻¹							
0 – 50 cm	662,5		162,5			175,0		

Extrator Melich: K - P - Fe - Mn - Cu e Zn; extrator KCl: Ca - Mg - Al; extrator HCl 0,05 N: B; extrator fosfato de cálcio: S; extrator dicromato de sódio: carbono

Durante a condução do experimento, foram coletados diariamente os dados de precipitação, utilizando pluviômetro, e temperatura, utilizando termo higrômetro, sendo os valores apresentados na Figura 1.

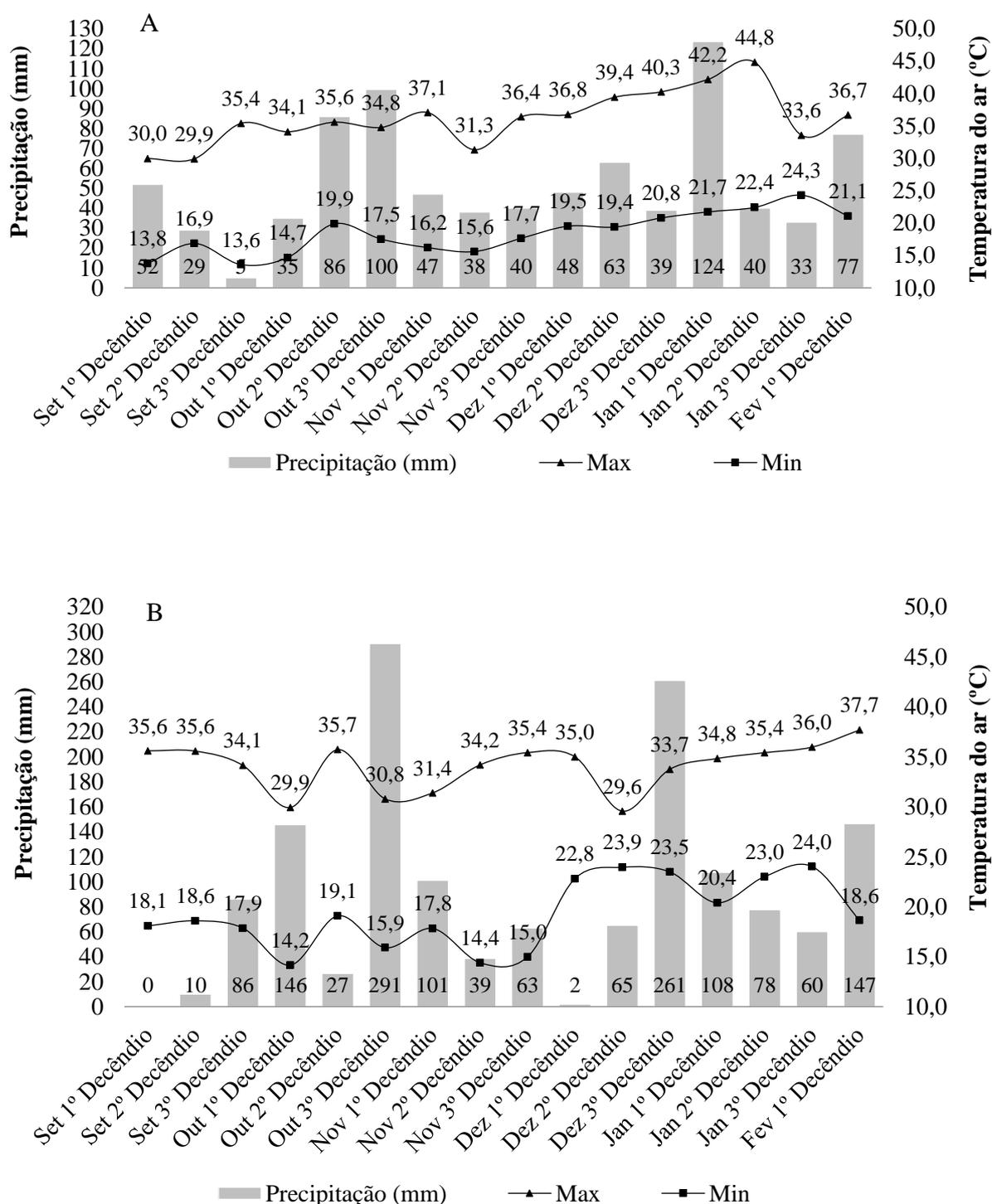


Figura 1. Média da temperatura e precipitação pluvial total, por decêndio, registradas durante o período da primeira safra de 2016/2017 (A) e primeira safra de 2017/2018 (B) em Novo Sarandi, Toledo - PR.

Conforme os resultados da análise de solo, realizada antes da implantação do experimento em 2016, detectou-se a necessidade de calagem, sendo aplicadas 4,345 ton ha⁻¹ de calcário calcítico (PRNT 75%) 90 dias antes da sementeira.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com esquema fatorial duplo 2 x 6 em quatro repetições. Os fatores testados foram híbridos em dois níveis e em seis níveis os quelatos, fungicida e água.

As parcelas experimentais foram compostas por 155 plantas distribuídas por cinco linhas de 5,0 m de comprimento (31 plantas por linha da parcela) e espaçamento de 0,90 m entre linhas (totalizando 68.888 plantas ha⁻¹), constituída de 10,8 m² de área útil, pois foram desconsiderados 0,5 m de cada extremidade da linha das parcelas para minimizar o efeito de deriva. Foram utilizadas para as avaliações apenas as três linhas centrais, duas destinadas aos caracteres agrônômicos e avaliações de severidade e uma destinada a análise foliar dos nutrientes, sobrando, portanto, pelo menos uma linha de bordadura em cada lateral da parcela, que somada à linha de bordadura da parcela adjacente, formaram uma barreira de pelo menos duas linhas de sementeira com o intuito de minimizar o efeito de bordadura.

Foram testados dois híbridos simples (30F53 Leptra RR e SX 7331 VIPTERA) disponíveis no mercado com recomendação para cultivo no Oeste do Paraná, sendo um híbrido resistente e outro suscetível às principais doenças foliares. Outro critério de escolha dos híbridos foi o ciclo, pois buscou-se escolher híbridos com ciclos semelhantes, para que ambos estivessem no mesmo estágio fenológico no momento da aplicação dos produtos e das avaliações.

As sementeiras foram realizadas nos dias 13/09/2016 e 07/09/2017 em sistema direto, sobre palhada de milho (*Zea mays* L.). Para sementeira foi utilizado trator Ford modelo 7630 e semeadora Metasa Kuhn PDM PV 900 de cinco linhas com conjunto de corte adaptado para sementeira direta.

A adubação de base foi realizada de acordo com a análise química do solo, utilizando 413 kg ha⁻¹ da fórmula 11-19-14 (NPK), contendo 45 kg de nitrogênio (N), 78 kg de fósforo (P₂O₅), 58 kg de potássio (K₂O), 0,5 kg de boro, 0,5 kg de cobre, 1 kg de manganês e 1 kg de zinco (PAULETTI; MOTTA, 2019).

Para adubação de cobertura utilizou-se ureia em duas aplicações, a primeira no estágio fenológico V₃ com 70 kg ha⁻¹ de N e a última em V₆ com 70 kg ha⁻¹ de N, objetivando produtividade superior a 13.000 kg ha⁻¹ (PAULETTI; MOTTA, 2019).

As plantas daninhas foram controladas com capina manual, e para controle de *Dichelops melacanthus* foi realizada aplicação de tiametoxam + lambda-cialotrina na dose de 0,25 L ha⁻¹ quando as plantas estavam no estágio fenológico V₂.

Foram aplicados como tratamentos, produtos quelatados entre aminoácidos e os elementos cálcio 15%, cobre 5%, manganês 15% e zinco 10%, na dose de 0,5 kg ha⁻¹, 0,3 L ha⁻¹, 0,4 kg ha⁻¹ e 1 L ha⁻¹, respectivamente, um tratamento com fungicida a base de azoxistrobina 20% e ciproconazol 8% na dose de 0,3 L ha⁻¹ + propiconazol 25% na dose de 0,4 L ha⁻¹, e um tratamento com água.

Os produtos foram aplicados cerca de 38 e 58 dias após a emergência, quando mais de 50% das plantas apresentavam-se nos estádios fenológicos V₈ e V_T, respectivamente. Em ambos os estádios, a aplicação foi realizada com pulverizador costal modelo Jacto PJH 20 L com ponteira de pulverização de jato cônico vazio Jacto ATR 1.5 ângulo de 80° utilizando volume de calda de 100 L ha⁻¹. Com exceção à aplicação dos produtos em estudo, os demais tratamentos culturais foram realizados igualmente em todas as parcelas.

Foram avaliados os caracteres agronômicos altura de planta, diâmetro de colmo, número de fileiras de grãos, número de grãos por fileiras, produtividade e massa de mil grãos.

A altura de planta foi obtida através da medida do solo até a curvatura da folha bandeira, uma semana após a floração, sendo avaliadas 10 plantas aleatoriamente dentro da área útil da parcela.

O diâmetro de colmo foi obtido no pleno florescimento feminino (estilo-estigma visíveis), avaliando as mesmas 10 plantas utilizadas na obtenção da altura de planta, com auxílio de paquímetro digital (milímetros), medindo na metade do primeiro entrenó expandido, e obtendo o diâmetro médio basal dos colmos da parcela.

Posterior a colheita manual, foi realizada a contagem do número de fileiras de grãos em 20 espigas amostradas ao acaso dentro da área útil da parcela de cada tratamento e repetição, a fim de obter o número médio de fileiras de grãos por espiga.

Além das fileiras, foi realizada a contagem do número de grãos por fileira, nas mesmas 20 espigas utilizadas para obtenção do número médio de fileiras de grãos por espiga.

Para avaliação da produtividade, as espigas colhidas nas parcelas foram debulhadas, e em seguida mensuradas a massa e a umidade dos grãos. Com base nesses dados e na área útil da parcela, calculou-se a produtividade por unidade de área, sendo registrado na forma de kg ha⁻¹ com umidade corrigida para 14%, conforme Regra Brasileira de Análises de Sementes (BRASIL, 2009).

A massa de mil grãos foi determinada através de oito amostras de 100 grãos para cada repetição de cada tratamento, onde as amostras, após identificadas e pesadas em balança de precisão, foram secas em estufa com circulação forçada de ar à 105 °C até massa constante. Posteriormente, as amostras foram novamente pesadas e feita a conversão da umidade de grãos para 14% (base úmida). Para obter a massa de 1000 grãos fez-se uma transformação da massa dos 800 grãos para 1000 grãos conforme regra de três simples.

A severidade das doenças foi avaliada conforme o aparecimento espontâneo das lesões, não sendo realizado nenhum processo de inoculação. O percentual de área foliar com sintomas da doença foi mensurado, quando disponível na literatura, através de escala diagramática específica para cada doença, a cada sete dias, a partir do momento em que os sintomas começaram a surgir. Foi avaliada a folha abaixo e oposta à espiga de 10 plantas dentro da área útil de cada parcela. Com os dados de severidade calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença utilizando a equação de Shaner e Finney (1977).

Na safra 2016/2017 houve incidência de mancha branca causada por *Pantoea ananatis*, ferrugem polysora causada por *Puccinia polysora* e cercosporiose causada por *Cercospora zae maydis*. Assim, utilizou-se as escalas diagramáticas propostas por Sachs et al. (2011) para mancha branca e por Fantin (1997) para ferrugem. Para cercosporiose, como não se encontrou escala diagramática, estimou-se os valores.

Na safra 2017/2018 houve a incidência de mancha branca e cercosporiose, sendo a severidade avaliada da mesma forma que na safra anterior, além de mancha foliar de *Exserohilum* causada por *Exserohilum turcicum* avaliada pela escala proposta por Lazaroto et al. (2012), diplodia (*Diplodia macrospora*) e mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*). Como para essas duas últimas não há escalas disponíveis na literatura, foi estimado um valor de severidade.

Na safra 2017/2018 foi realizada análise foliar para determinação dos elementos cálcio, cobre, manganês e zinco seguindo a metodologia de Lana (2010). Coletou-se, na linha destinada para esta análise destrutiva, o terço médio de 10 folhas de cada parcela antes da primeira aplicação dos tratamentos, e o terço médio de 10 folhas de cada parcela, 24 horas após a aplicação dos tratamentos, não coletando folhas danificadas, doentes ou atacadas por insetos.

As folhas foram imediatamente limpas em água de torneira abundante e água ultrapura, e em seguida, utilizando um pedaço de algodão encharcado em solução HCl 3% (v/v) retirou-se possíveis resquícios de sujeira. As folhas foram enxaguadas com água ultrapura e secas ao ar na sombra. A nervura central foi retirada e o material acondicionado em sacos de papel,

sendo levados a estufa de circulação forçada de ar para secagem em temperatura de 65 °C, até atingir massa constante.

Após secas, as amostras foram trituradas em moinho tipo Willey com facas de aço inoxidável, e 0,2 g de cada parcela foi colocado em tubos de digestão juntamente com 4 mL de ácido nitroperclórico, composto por 3 mL de ácido nítrico e 1 mL de ácido perclórico. O material foi deixado em capela durante 12 horas em pré digestão, e posteriormente, realizou-se a digestão propriamente dita utilizando bloco digestor para 40 tubos de digestão, inicialmente por 1 h à 150 °C com aumento gradativo e em seguida 400 °C até o extrato tornar-se totalmente transparente (incolor) e se obter fumos brancos de HClO₄.

O extrato restante, após esfriar, foi aferido para 50 mL acrescentando água ultrapura e em seguida realizou-se a leitura dos nutrientes em espectrofotômetro de absorção atômica. O teor de macronutrientes foi expresso em g kg⁻¹, enquanto que o teor de micronutrientes foi expresso em mg kg⁻¹.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Utilizou-se o fatorial 2 x 6 sendo dois híbridos (30F53 Leptra RR e SX 7331 VIPTERA) e cálcio, cobre, manganês, zinco, fungicida e água em seis níveis. Excepcionalmente na safra 2017 / 2018 para mancha foliar de *Exserohilum* e mancha bacteriana da folha, utilizou-se delineamento em blocos casualizados simples, pois a ocorrência destas doenças foi registrada em apenas um dos híbridos em estudo (SX 7331 VIPTERA). Para determinação dos elementos utilizou-se teste t de Student para comparação das concentrações de cada nutriente, para cada híbrido, antes e depois da aplicação foliar dos tratamentos. Utilizou-se o software livre Genes (CRUZ, 2016).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância das duas primeiras safras estudadas (2016/2017 e 2017/2018) apresentada na Tabela 2, verifica-se, para primeira safra de 2016/2017, diferenças entre os tratamentos para as características número de fileiras da espiga, número de grãos por fileira, massa de mil grãos e produtividade, enquanto que para os híbridos, foi verificada significância para todas as variáveis analisadas, porém, estes dados não foram mostrados e discutidos pois o interesse deste estudo não foi verificar as diferenças varietais entre os genótipos, mas sim, verificar o comportamento dos mesmos em relação aos tratamentos. Não foi verificado efeito significativo da interação entre tratamentos e híbridos para nenhuma das variáveis analisadas,

o que demonstra que não existe dependência, ou seja, independente do híbrido, o comportamento dos tratamentos é o mesmo.

Na safra 2017/2018, através da análise de variância (Tabela 2) é possível verificar que houve diferença entre os tratamentos somente para as variáveis massa de mil grãos e produtividade, enquanto que para os híbridos houve significância para todas as variáveis analisadas. Não foi verificado efeito significativo da interação entre tratamentos e híbridos para nenhuma das variáveis analisadas, o que demonstra que não existe dependência entre esses fatores.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para altura de plantas, diâmetro de colmo, número de fileiras por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), massa de mil grãos (MMG) e produtividade, em função de seis tratamentos foliares (cálcio, cobre, manganês e zinco) e dois híbridos (SX 7331 VIPTERA e 30F53 Leptra RR). Novo Sarandi, Toledo - PR, Safras 2016/2017 e 2017/2018.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio das Características					
		Altura	Diâmetro	NFE	NGF	MMG	Produtividade
Safra 2016/2017							
Blocos	3	0,0096	1,35	0,146	0,15	259,18	77820,11
Tratamentos (T)	5	0,0019 ^{ns}	0,07 ^{ns}	1,43**	6,14*	783,17**	3818310,75**
Híbridos (H)	1	0,02**	14,01**	0,85*	493,12**	18526,02**	21202469,30**
Interação T x H	5	0,0011 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,58 ^{ns}	113,27 ^{ns}	332392,23 ^{ns}
Resíduo	33	0,0019	0,28	0,35	2,30	117,42	497439,54
Média Geral		2,26	22,41	15,40	37,91	398,02	14034,77
CV (%)		1,94	2,36	3,08	4,00	2,72	5,02
Safra 2017/2018							
Fator de Variação	GL	Altura	Diâmetro	NFE	NGF	MMG	Produtividade
Blocos	3	0,0005	0,20	0,06	1,90	26,19	941384,25
Tratamentos (T)	5	0,0006 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,08 ^{ns}	1,17 ^{ns}	489,98**	1085655,97*
Híbridos (H)	1	0,11**	27,40**	9,36**	22,07**	3109,23**	10618823,09**
Interação T x H	5	0,0017 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,12 ^{ns}	2,59 ^{ns}	62,05 ^{ns}	764704,51 ^{ns}
Resíduo	33	0,0019	0,04	0,10	1,21	107,66	403889,64
Média Geral		2,18	21,23	14,92	31,83	395,64	14895,12
CV (%)		0,62	1,02	2,14	3,46	3,04	4,26

^{ns}: não significativo; *: significativo a 5% de probabilidade, e **: significativo a 1% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.

Para a primeira safra 2016/2017 pode-se observar na Tabela 3 que para o número de fileiras por espiga e para o número de grãos por fileiras, o tratamento fungicida apresentou valor maior que o tratamento água, enquanto os quelatos (cálcio, cobre, manganês e zinco) foram iguais ao fungicida e a água. Para as variáveis massa de mil grãos e produtividade, os quelatos apresentaram-se iguais ao fungicida, demonstrando efeito destes tratamentos para estas variáveis.

Esse efeito dos tratamentos para as variáveis massa de mil grãos e produtividade pode ter ocorrido pelo fato dos quelatos ajudarem as plantas a manter maior sanidade, ativando mecanismos de defesa vegetal através da indução de resistência ou fortalecendo a defesa da planta, como por exemplo, pelo fornecimento de cálcio e manganês, ou terem ação fungitóxica direta sobre determinados patógenos, como o cobre, por exemplo. O cálcio tem papel fundamental na estruturação e composição bioquímica da célula vegetal, especialmente da parede celular e da membrana plasmática (WHITE; BROADLEY, 2003), acentuando a resistência do hospedeiro ao patógeno (HUBER, 1980). O manganês também pode estar relacionado com a indução de resistência, ativando várias enzimas da via do ácido chiquímico e vias subsequentes, levando à biossíntese de aminoácidos aromáticos e produtos secundários como lignina e flavonóides (BURNELL, 1988). O cobre é prontamente acumulado pela célula fúngica e forma complexos com enzimas que possuem grupos sulfidríla, hidroxila, amino ou carboxila, inativando-as, desorganizando assim o metabolismo e a integridade do esporo ou da hifa (REIS et al., 2010).

Dessa forma, os nutrientes podem estar relacionados à redução da severidade de algumas doenças (LIMA et al., 2010), tendo ação ou na planta como um todo ou nas áreas de contato com o patógeno (BEDENDO et al., 2018).

Tabela 3. Número de fileiras da espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), massa de mil grãos (MMG) e produtividade (kg ha⁻¹) para milho tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2016/17.

Tratamento	NFE		NGF		MMG	Produtividade		
Cálcio	15,46	ab	38,47	ab	400,37	a	14.55	a
Cobre	15,46	ab	38,13	ab	405,75	a	14.29	a
Manganês	15,56	ab	38,01	ab	398,37	a	14.09	a
Zinco	15,35	ab	37,44	ab	401,62	a	13.94	a
Fungicida	15,9	a	38,95	a	403,50	a	14.59	a
Água	14,63	b	36,44	b	378,50	b	12.72	b
DMS	1,28		2,29		16,37		1.06	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05). DMS: diferença mínima significativa.

Referente a safra 2017/2018, para as variáveis massa de mil grãos e produtividade, o tratamento fungicida apresentou maiores valores, diferindo do tratamento água. Todos os demais tratamentos não diferiram nem do fungicida nem da água (Tabela 4).

Caracteres agronômicos, como a produtividade, são dependentes do manejo correto das doenças e dos nutrientes essenciais (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012). De acordo com Gonçalves et al. (2012) a utilização de fungicida (piraclostrobina + epoxiconazole) proporciona aumento das variáveis massa de mil grãos, número de grãos por espiga e rendimento para a cultura do milho.

Henriques et al. (2014) e Rosa et al. (2017) também observaram efeito do tratamento com fungicida em variáveis agronômicas como número de fileiras por espiga, massa de mil grãos e produtividade, que de acordo com Rosa et al. (2017) ocorre devido ao fungicida permitir que a planta atinja sua máxima capacidade fotossintética, pela conservação da área foliar, fazendo com que ocorra mais fluxo de fotoassimilados na planta nos momentos mais críticos como o florescimento e o enchimento de grãos.

Tabela 4. Massa de mil grãos (MMG) e produtividade em (kg ha⁻¹) de milho tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2017/18.

Tratamento	MMG		Produtividade	
Cálcio	392,34	ab	14.65	ab
Cobre	396,01	ab	14.70	ab
Manganês	391,11	ab	15.11	ab
Zinco	399,57	ab	15.05	ab
Fungicida	408,66	a	15.42	a
Água	386,17	b	14.41	b
DMS	22,17		960.00	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05). DMS: diferença mínima significativa.

Rosa et al. (2017) verificaram aumento de produtividade em milho de até 31% comparado a água quando utilizado fungicida (azoxistrobina + ciproconazol) na cultura do milho. Bampi et al. (2012), também estudando a cultura do milho, verificaram que aplicações preventivas de fungicidas sistêmicos, assim como os utilizados neste estudo, promoveram diminuição de 65% na incidência de doenças, o que incrementa o desempenho de variáveis agronômicas de grande importância, como por exemplo, a massa de mil grãos e a produtividade. Bortolini e Gheller (2012) utilizando fungicidas (azoxistrobina + ciproconazol, piraclostrobina e trifloxistrobina) na cultura do milho, também verificaram maior produtividade.

Segundo Brito et al. (2011), pode-se definir como período crítico para a cultura do milho aquele da pré-floração até o momento em que se inicia o enchimento dos grãos, visto que qualquer estresse, como por exemplo, falta de chuva ou diminuição da área fotossintetizante, acarreta em grandes impactos na produção. Este pode ter sido um dos motivos do fungicida ter mostrado significância para diversas variáveis, ou seja, mesmo o milho já tendo definido seu potencial produtivo, com a utilização do fungicida foi possível preservar esse potencial produtivo, evitando perdas de produtividade por doenças.

Outra possível justificativa para os resultados encontrados se deve ao fato de que foram utilizados híbridos simples (CRUZ et al., 2015) que possuem uniformidade (CRUZ; PEREIRA FILHO, 2009) e alta propensão à incidência de doenças, características que contribuem para resultados positivos mais evidentes quando há a aplicação de fungicidas (ROSA et al., 2017).

De acordo com Ritchie et al. (1993) o potencial produtivo do milho é definido nos estádios fenológicos V₄ e V₅, ou seja, quando estão expandidas de quatro a cinco folhas, respectivamente, em razão da diferenciação floral. De acordo com os mesmos autores, é neste momento que a cultura origina os primórdios da espiga e do pendão, assim como a diferenciação das folhas. Diante disso, pode ser que a aplicação dos tratamentos quelatos entre aminoácidos e elementos deste trabalho tenha sido tardia (estádio V₈ e V_T), o que pode ter contribuído para os resultados não tão expressivos. Estudos para avaliação dos caracteres agronômicos com aplicação antecipada destes quelatos podem ser realizadas para verificar esta hipótese.

Outro fator que também pode ter influenciado nos resultados observados, foi a correção do solo com calcário calcítico, realizada antes da implantação da cultura, e a utilização de adubo de base contendo os micronutrientes testados. Dessa forma, pode ser que não havia necessidade dos nutrientes aplicados via foliar, pois seus níveis estavam de acordo com a necessidade da planta, que já havia absorvido os nutrientes necessários antes mesmo da aplicação foliar dos quelatos.

De acordo com Biscaro et al. (2014), ainda se conhece pouco sobre os fertilizantes foliares e como eles auxiliam na complementação dos fertilizantes aplicados via solo na busca de maior eficiência de uso dos nutrientes, maior produtividade e, conseqüentemente, maior lucratividade.

A incidência de patógenos nas safras 2016/2017 e 2017/2018 foi distinta. No primeiro ano agrícola estudado, foram registrados mancha branca, cercosporiose e ferrugem, enquanto que no segundo, verificou-se a presença de mancha branca, diplodia, cercosporiose, mancha bacteriana da folha e mancha foliar de *Exserohilum*.

O fato de ter ocorrido doenças distintas nos anos de estudo pode ser justificado pelo triângulo da doença e pelos registros de temperatura e chuva durante os períodos de condução. Para que a doença ocorra é necessário além do hospedeiro, a presença do patógeno e ambiente favorável, caso um destes três fatores não ocorra, a doença não irá se manifestar. Dessa forma, pode ser que determinadas doenças foram favorecidas ou desfavorecidas nas safras estudadas, já que, embora sendo o mesmo local de implantação e havendo a presença do hospedeiro, o patógeno não necessariamente estava presente no local e o ambiente (temperaturas e precipitações) foi distinto nos dois anos, favorecendo ou desfavorecendo a ocorrência de diferentes doenças.

Pela análise de variância da safra 2016/2017 apresentada na Tabela 5, verifica-se diferença entre os tratamentos para mancha branca e cercosporiose, enquanto que entre os híbridos houve significância para mancha branca e ferrugem, porém, estes dados não foram

discutidos nem as médias apresentadas, pois não foi o objetivo do estudo. Não houve interação significativa para nenhuma das variáveis analisadas.

Com relação à safra 2017/2018, a análise de variância (Tabela 5) mostra significância entre os tratamentos para mancha branca e cercosporiose, enquanto que para diplodia, apenas houve significância para os híbridos, não sendo, portanto, mostrados e discutidos estes dados.

Tabela 5. Resumo da análise de variância para mancha branca, cercosporiose e ferrugem polysora na safra 2016/2017, e resumo da análise de variância para mancha branca, diplodia e cercosporiose em função de seis tratamentos foliares (cálcio, cobre, manganês, zinco, fungicida e água) e dois híbridos (SX 7331 VIPTERA e 30F53 Leptra RR) na safra 2017/2018, Novo Sarandi, Toledo - PR 2018.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio das Doenças		
		Mancha Branca	Cercosporiose	Ferrugem polysora
Safra 2016/2017				
Blocos	3	1527,16	113,85	1,15
Tratamentos (T)	5	3948,00*	1483,77**	2,37 ^{ns}
Híbridos (H)	1	73942,29**	462,52 ^{ns}	42,56**
Interação T x H	5	422,36 ^{ns}	9,07 ^{ns}	2,57 ^{ns}
Resíduo	33	925,54	131,56	2,39
Média Geral		96,69	52,47	2,02
CV (%)		31,46	21,85	76,41
Fator de Variação	GL	Quadrado Médio das Doenças		
		Mancha Branca	Diplodia	Cercosporiose
Safra 2017/2018				
Blocos	3	157,40	522,30	125,90
Tratamentos (T)	5	443,22**	978,48 ^{ns}	3794,52**
Híbridos (H)	1	10121,02**	978694,08**	1,68 ^{ns}
Interação T x H	5	68,02 ^{ns}	183,68 ^{ns}	3,78 ^{ns}
Resíduo	33	66,98	2141,47	253,21
Média Geral		34,47	206,95	65,64
CV (%)		23,73	22,36	24,24

^{ns}: não significativo; *: significativo a 5% de probabilidade, e **: significativo a 1% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.

Na safra 2016/2017, para a doença mancha branca, apenas o tratamento fungicida diferiu da água apresentando valores menores da doença, porém, os demais tratamentos foram estatisticamente iguais tanto à água quanto ao fungicida. Para cercosporiose, apenas o tratamento fungicida diferiu da água, sendo todos os demais iguais a ela (Tabela 6).

Tabela 6. Área abaixo da curva de progresso da mancha branca e da cercosporiose para milho (híbridos SX 7331 VIPTERA e 30F53 Leptra RR) tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2016/17.

Tratamento	Mancha Branca		Cercosporiose	
Cálcio	100,95	ab	57,37	a
Cobre	86,85	ab	56,50	a
Manganês	102,90	ab	58,25	a
Zinco	100,85	ab	56,87	a
Fungicida	58,85	b	24,87	b
Água	125,35	a	61,00	a
DMS	45,98		17,33	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significativa.

Na safra 2017/2018, o teste de médias para mancha branca e cercosporiose apresentou diferença entre o fungicida e os demais tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7. Área abaixo da curva de progresso da mancha branca e da cercosporiose para milho (híbridos SX 7331 VIPTERA e 30F53 Leptra RR) tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2017/18.

Tratamento	Mancha Branca		Cercosporiose	
Cálcio	34,37	a	76,00	a
Cobre	34,00	a	75,00	a
Manganês	38,00	a	72,25	a
Zinco	38,00	a	71,00	a
Fungicida	20,50	b	21,50	b
Água	42,00	a	78,12	a
DMS	12,27		24,04	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significativa.

Para cercosporiose, em trabalho realizado *in vitro* adicionando em meio de cultura ágar-água esporos de *C. zae maydis* juntamente com o tratamento, houve diminuição do número de esporos germinados, sendo os valores, para todos os quelatos, diferentes da testemunha água e do fungicida, apresentando quantidade intermediária de esporos germinados. Realizando o mesmo estudo em folhas destacadas de milho e adicionando os esporos *C. zae maydis* em intervalos de tempos de zero, 1, 2, 3, 4 e 5 horas após o tratamento, verificou-se nos tempos zero, um, dois e três o mesmo comportamento encontrado quando utilizado o meio de cultura ágar-água, e nos tempos 4 e 5 horas após o tratamento, todos os quelatos proporcionaram valores de germinação de esporos iguais a água (LORENZETTI; STANGARLIN, 2019).

O fato de ter sido verificada diminuição dos esporos germinados em ensaio com folhas destacadas e não na severidade nos ensaios em campo pode ter ocorrido pelo fato de os experimentos *in vitro* terem sido realizados em ambiente controlado, enquanto que os ensaios *in vivo* foram realizados a campo e sabe-se que o ambiente possui elevada influência sobre a relação patógeno e planta hospedeira (BEDENDO et al., 2018).

Para mancha bacteriana da folha e mancha foliar de *Exserohilum*, apenas o híbrido SX 7331 VIPTERA apresentou estas doenças, assim, não foi possível realizar a estatística como fatorial. Realizou-se, portanto, um delineamento em blocos casualizados simples, utilizando apenas os valores para o híbrido SX 7331 VIPTERA.

Pela análise de variância para essas variáveis (Tabela 8), foi possível verificar que para a mancha bacteriana da folha não houve diferença entre os tratamentos, enquanto que para mancha foliar de *Exserohilum* houve efeito significativo.

Tabela 8. Resumo da análise de variância para mancha bacteriana da folha e mancha foliar de *Exserohilum* em função de quelatos de cálcio, cobre, manganês e zinco, fungicida e água em híbrido SX 7331 VIPTERA. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2017/18.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio das Doenças	
		Mancha bacteriana da folha	Mancha foliar de <i>Exserohilum</i>
Blocos	3	1363,27	44,81
Tratamentos	5	208,70 ^{ns}	765,44 ^{**}
Resíduo	15	1394,74	117,21
Média Geral		331,25	69,54
CV (%)		11,27	15,56

^{ns}: não significativo; *: significativo a 5% de probabilidade, e **: significativo a 1% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.

A ausência de diferença para a variável mancha bacteriana da folha deve ter ocorrido porque nem mesmo o fungicida utilizado apresentou ação no controle do patógeno, o que já se esperava visto que se trata de uma bactéria e o produto utilizado destina-se ao controle de alguns fungos.

O fato de não ter sido verificada mancha bacteriana da folha no híbrido 30F53 Leptra RR pode ter ocorrido devido a características genéticas do mesmo, porém, não foi encontrada na literatura nenhum relato de resistência do material para este patógeno. Por outro lado, com relação a mancha foliar de *Exserohilum*, o híbrido 30F53 Leptra RR é considerado resistente (CRUZ et al., 2015; PEREIRA FILHO; BORGHI, 2016), enquanto o híbrido SX 7331 VIPTERA é considerado suscetível (CRUZ et al., 2015).

Para mancha foliar de *Exserohilum* o fungicida diferiu da água, sendo todos os outros tratamentos iguais a ela (Tabela 9).

Tabela 9. Área abaixo da curva de progresso da mancha foliar de *Exserohilum* em milho (híbridos SX 7331 VIPTERA e 30F53 Leptra RR) tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2017/18.

Tratamento	Mancha foliar de <i>Exserohilum</i>	
Cálcio	72,50	a
Cobre	75,00	a
Manganês	77,50	a
Zinco	71,00	a
Fungicida	42,00	b
Água	79,25	a
DMS	24,90	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significativa.

Em estudo preliminar *in vitro* buscando verificar se os mesmos quelatos (cálcio, cobre, manganês e zinco) interferiam na germinação de esporos, para mancha foliar de *Exserohilum*, não foi verificado diminuição da germinação de esporos, comprovando que realmente os produtos não apresentam efeito direto sobre esse patógeno por ação fungitóxica (LORENZETTI; STANGARLIN, 2019), e nem por uma possível indução de resistência no caso dos ensaios de campo.

Para mancha branca, cercosporiose e mancha foliar de *Exserohilum*, houve diminuição da severidade apenas pelo fungicida. Corroborando com estes resultados, Wesp-Guterres et al. (2015), estudando dois híbridos de milho, verificaram redução da severidade de *P. polysora*, *E. turcicum* e *Phaeosphaeria maydis*, aplicando epoxiconazol + piraclostrobina e fluxapiroxade + piraclostrobina no estágio fenológico V₈, assim como, Jardine e Laca-Buendia (2009), utilizando azoxistrobina + ciproconazole em pré-V_T também verificaram redução da severidade de mancha branca e cercosporiose.

De maneira geral, segundo Vilela et al. (2012), fungicidas piraclostrobina + epoxiconazol e azoxistrobina + ciproconazol aplicados no pré-pendoamento do milho diminuem a incidência e severidade de doenças foliares, assim como verificado neste estudo.

Os nutrientes podem afetar também o desenvolvimento das plantas, o que pode ter influência nas doenças pois o crescimento das plantas pode modificar o microclima do local favorecendo ou desfavorecendo certas doenças (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012).

Plantas bem nutridas não apresentam vantagens ao receber doses maiores de cálcio, cobre, manganês ou zinco, pelo contrário, pensando nas doenças, talvez seria mais vantajoso se o nutriente permanecesse por mais tempo na superfície da folha para ter alguma ação na pré-infecção. Não foi verificada uma ação diferenciada de um quelato específico. Estudos específicos para análise de enzimas relacionadas a patogênese poderiam ser realizados a fim de confirmar as hipóteses deste estudo já que de acordo com Zambolim e Ventura (2012), os nutrientes podem influenciar em mecanismos de resistência das plantas tanto estruturais, como deposição de silício e de cálcio, quanto na síntese de certos compostos antimicrobianos, como por exemplo, fitoalexinas.

Quando testado *in vitro* em contato direto com o patógeno, os produtos mostraram efeito antimicrobiano (LORENZETTI; STANGARLIN, 2019), mas *in vivo*, até mesmo pela característica de, segundo o fabricante, rápida absorção, e considerando plantas bem nutridas, os resultados obtidos não foram satisfatórios.

Devido as correções de fertilidade realizadas através dos dados da análise química do solo e levando em consideração a adubação utilizada, provavelmente não foi possível visualizar efeito muito evidente dos quelatos, pois as plantas não necessitavam maior quantidade dos nutrientes estudados, não havendo necessidade de suplementação. De acordo com Pauletti e Motta (2019) os níveis de cálcio, manganês e zinco apresentavam-se altos e o nível de cobre muito alto, o que sustenta a hipótese que não havia necessidade destes nutrientes pela planta, fato que pode justificar tanto os resultados dos caracteres agrônômicos como os de severidade das doenças estudadas.

Na determinação dos elementos cálcio, cobre, manganês e zinco, verificou-se que tanto para ambos os híbridos quanto para todos os quelatos não houve diferença estatística entre as quantidades dos nutrientes antes e depois da aplicação dos produtos (Tabela 10).

Tabela 10. Teor médio de cálcio (g kg^{-1}), cobre (mg kg^{-1}), manganês (mg kg^{-1}) e zinco (mg kg^{-1}) no tecido foliar de dois híbridos (SX 7331 VIPTERA e 30F53 Leptra RR) de milho em função dos tratamentos com quelatos entre aminoácidos e esses elementos. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2017/18.

	30F53 Leptra RR		SX 7331 VIPTERA	
	Antes	Depois	Antes	Depois
Cálcio	4,18	3,87 ^{ns}	3,06	3,62 ^{ns}
Cobre	0,05	0,06 ^{ns}	0,01	0,04 ^{ns}
Manganês	35,00	33,12 ^{ns}	36,87	30,75 ^{ns}
Zinco	42,50	32,50 ^{ns}	46,37	31,87 ^{ns}

^{ns}: não significativo pelo teste t de Student.

Os quelatos podem não ter demonstrado efeito muito satisfatório para a severidade das doenças aqui avaliadas, pois segundo Gott et al. (2014), fatores como a maior absorção dos nutrientes são proporcionados pelo equilíbrio nutricional da cultura e não por uma ação pontual ou a aplicação de um único nutriente, assim é preciso que todo o sistema seja estudado. Conhecer melhor o sistema compreende a realização de análises foliares pois é uma ferramenta eficiente e de baixo custo que pode ser utilizada buscando melhorar o manejo nutricional (CAMACHO et al., 2012), visto que este tipo de análise auxilia no planejamento e monitoramento das ações relacionadas a fertilidade (DIAS et al., 2013).

Souza et al. (2010) também afirmam que muitos fatores podem interferir na absorção e na disponibilidade dos nutrientes, como por exemplo o pH, assim, a concentração de determinado nutriente na folha pode variar também em função do solo em que a planta se encontra e do ambiente de maneira geral.

Os outros nutrientes presentes no sistema também podem ter contribuído para os resultados obtidos, afinal o fósforo (P), por exemplo, tem sua demanda nutricional em híbridos de alto potencial produtivo muito variada de acordo com a região de cultivo (PINHO et al., 2009; SETIYONO et al., 2010), enquanto o potássio (K), em elevada dose, provoca efeito contrário na absorção e na quantidade de magnésio (Mg) na folha (SCHERER, 1998). O ferro (Fe) e o manganês (Mn) são elementos de elevada amplitude, o que causa influência negativa sobre as interações (BORGES et al., 2009), e o cobre (Cu) possui afinidade com o átomo de nitrogênio (N), portanto, é deslocado no xilema e floema através destes compostos nitrogenados solúveis (SOUZA et al., 2010).

Büll (1993) verificou que no milho a absorção dos nutrientes ocorre durante todo o ciclo da cultura, porém, esta absorção ocorre com velocidade diferente dependendo do momento do ciclo em que as plantas se encontram, assim como a translocação destes nutrientes também muda.

4.4 CONCLUSÃO

Para as condições edafoclimáticas em que o experimento foi realizado, os produtos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco apresentaram efeito sobre os caracteres agronômicos e as doenças do milho de primeira safra. O fungicida proporcionou redução de até 47%, 53% e 72% na AACPD de mancha foliar de *Exserohilum*, mancha branca e cercosporiose, respectivamente, e por consequência a produtividade foi até 12% maior com relação a água.

4.5 REFERÊNCIAS

BAMPI, D.; CASA, R.T.; BOGO, A.; SANGOI, L.; SACHS, C.; BOLZAN, J.M.; PILETTI, G. Desempenho de fungicidas no controle da mancha-de-macrospora da cultura do milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.38, n.4, p.319-322, 2012.

BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; MATTOS-JR, D. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v.1, 2018. p.93-103.

BETTIOL, W. Conversão de sistemas de produção. In: POLTRONIERI, L.S.; ISHIDA, A.K.N. **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas: panorama atual e perspectivas na agricultura**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. p.289-308.

BISCARO, G.A.; PRADO, E.A.F.; MOTOMIYA, A.V.A.; ROBAINA, A.D. Efeito de diferentes níveis de adubação foliar com NPK mais micronutrientes na produtividade do milho safrinha na Região de Dourados/MS. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.5, p.2169-2178, 2013.

BORGES, I.D.; PINHO, R.G. VON; PEREIRA, J.L.A.R. Acúmulo de micronutrientes em híbridos de milho em diferentes estádios de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.4, p.1018-1025, 2009.

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**, Cascavel, v.1, p.109-121, 2012.

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

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G.; PEREIRA, J.L.A.R.; BALESTRE, M. Controle químico da Cercosporiose, Mancha-Branca e dos Grãos Ardidos em milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.60, n.5, p.629-635, 2013.

BRITO, C.H.; SILVEIRA, D.L.; BRANDÃO, A.M.; GOMES, L.S.; LOPES, M.T.G. Redução de área foliar em milho em região tropical no Brasil e os efeitos em caracteres agronômicos. **Interciencia**, Caracas, v.36, p.291-295, 2011.

BÜLL, L.T. Nutrição mineral do milho. In: BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. (ed.) **Cultura do milho; fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1993. p.63-145.

BURNELL, J.N. The biochemistry of manganese in plants. In: **Manganese in soils and plants**. Springer, Dordrecht, 1988. p.125-137.

CAMACHO, M.A.; SILVEIRA, M.V.; CAMARGO, R.A.; NATALE, W. Faixas normais de nutrientes pelos métodos ChM, DRIS e CND e nível crítico pelo método de distribuição normal reduzida para laranjeira-pera. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.36, n.1, p.193-200, 2012.

CARVALHO, R.V.; PEREIRA, O.A.P.; CAMARGO, L. E.A. Doenças do milho. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v.2, 2016. p. 549-560.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos. **Monitoramento agrícola – Safra 2019/20**, v.7. Safra 2019/20, n.3. Terceiro Levantamento, 2019.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.38, n.4, p.547-552, 2016.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A. **Cultivo do milho: cultivares**. 5. ed. Embrapa Milho e Sorgo: Sete lagoas, MG. Sistemas de Produção, 2, 2009.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; BORGHI, E.; SIMÃO, E.P. **Quatrocentas e Setenta e Sete Cultivares de Milho estão Disponíveis no Mercado de Sementes do Brasil para a Safra 2015/16**. Documentos 184. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 28p. 1 edição.

DIAS, J.R.M.; WADT, P.G.S.; TUCCI, C.A.F.; SANTOS, J.Z.L.; SILVA, S.V. Normas DRIS multivariadas para avaliação do estado nutricional de laranjeira ‘Pera’ no estado do Amazonas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.44, n.2, p.251-259, 2013.

FANTIN, G.M. **Avaliação de resistência do milho a ferrugem causada por *Puccinia polysora* Underw.** 1997. 136f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Production: crops. 2019. Disponível em: <www.faostat.fao.org>. Acesso em: 30 mai. 2019.

GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V.; TROGELLO, M.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, n.2, p.819-828, 2014.

GONÇALVES, M.E.M.P.; GONÇALVES JUNIOR, 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 safrinha. **Nucleus**, Ituverava, v.9, n.1, p.49-62, 2012.

GOTT, R.M.; AQUINO, L.A.; CARVALHO, A.M.X.; SANTOS, L.P.D.; NUNES, P.H.M.P.; COELHO, B.S. Índices diagnósticos para interpretação de análise foliar do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.11, p.1110-1115, 2014.

HAMERSCHMIDT, I.; TOLEDO, M.V.; POPIA, A.F.; ASSIS, O. **Manual de olericultura orgânica**. Curitiba: Emater, 129p., 2012.

HENRIQUES, M.J.; OLIVEIRA NETO, A.M.; GUERRA, N.; OLIVEIRA, N.C.; CAMACHO, L.R.S.; GONZALO JÚNIOR, O.A. Controle de Helmintosporiose em milho pipoca com a aplicação de fungicidas em diferentes épocas. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, Ponta Grossa, v.9, n.2, p.45-57, 2014.

HUBER, D.M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL, COWLING, E.B. **Plant Pathology: an advanced Treatise**. New York: Academic Press, v.5, p.381-406, 1980.

JARDINE, D. F.; LACA-BUENDIA, J. P. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho. **FAZU em Revista**, Uberaba, n.6, p.11-52, 2009.

LAZAROTO, A.; SANTOS, I.; KONFLANZ, V.; MALAGI, G.; CAMOCHENA, R. C. Escala diagramática para avaliação de severidade da Helmintosporiose comum em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.12, p.2131-2137, 2012.

LANA, M.C. **Análise química de solo e tecido vegetal: Práticas de Laboratório**. Cascavel: EDUNIOESTE, 130p., 2010.

LIMA, L.M.; POZZA, E.A.; TORRES, H.N.; POZZA, A.A.A.; SALGADO, M.; PFENNING, L.H. Relação nitrogênio/potássio com mancha de Phoma e nutrição de mudas de cafeeiro em solução nutritiva. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.35, p.223-228, 2010.

LORENZETTI, E.; STANGARLIN, J.R. Germinação de esporos de *Puccinia sorghi*, *Exserohilum turcicum* e *Cercospora* sp. em quelatos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco. **Caatinga**, 2019. (no prelo).

MANFROI, E.; LANGHINOTTI, C.; DANELLI, A.; PARIZE, G. Controle químico de doenças foliares e rendimento de grãos na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.15, n.2, p.357-365, 2016.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. New York: Academic Press, 3. ed. London: Elsevier, 2012. 643p.

MORANDI, M.A.B; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.7-14, 2009.

MOTTER, A.; GIONGO, L.; ROSSONO, M.E.; MENEGHETTI, M.L.; MATOS, R.E.; OLIVEIRA, R.C. Nutrição mineral e a incidência de patógenos em plantas. In: VIECELLI, C.A.; MOREIRA, G.C.; OLIVEIRA, R.C.; SIMONETTI, A.P.M.M.; SANTOS, R.F. **Nutrição mineral e a incidência de doenças em plantas**. Cascavel: ASSOESTE, p.15-30, 2012.

PAULETTI, V.; MOTTA, A.C.V. Calagem e adubação para as principais espécies de cereais cultivadas no estado do Paraná. In: ____. Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. 1. ed. Curitiba: SBCS/NEPAR, 2019. cap. 8, p.83-109.

PEREIRA FILHO, I.A.; BORGHI, E. **Mercado de Sementes de Milho no Brasil: Safra 2016/2017**. Documentos 202. Sete lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 28p. 1 edição.

PINHO, R.G. VON; BORGES, I.D.; PEREIRA, J.L.A.R.; REIS, M.C. Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.8, n.2, p.157-173, 2009.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; CARMONA, M.A. **Manual de fungicidas** – guia para o controle químico de doenças de plantas. Passo Fundo: Editora da Universidade de Passo Fundo, 2010. 226p.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26p. (Special report, 48).

ROSA, W.B.; DUARTE JÚNIOR, J.B.; QUEIROZ, S.B.; PEREGO, I.; MATTEI, E. Desempenho agrônomico de cinco híbridos de milho submetidos à aplicação de fungicida em diferentes estádios fenológicos. **Revista Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.25, n.05, p.428-435, 2017.

SACHS, P. J. D.; NEVES, C.S.V.J.; CANTERI, M.G.; SACHS, L.G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.4, p.202-204, 2011.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.T.K.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. rev. e ampl., Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353p.

SCHERER, E.E. Resposta da soja à adubação potássica em Latossolo Húmico distrófico num período de doze anos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.1, p.49-55, 1998.

SETIYONO, T.D.; WALTERS, D.T.; CASSMAN, K.G.; WITT, C.; DOBERMANN, A. Estimating maize nutrient uptake requirements. **Field Crops Research**, Kansas, v.118, n.2, p.158-168, 2010.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization the expression. of slow mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, p. 1051-1056, 1977.

SOUZA, L.H.; NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.V.; VILLANI, E.M.A. Efeito do pH do solo rizosférico e não rizosférico de plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* na absorção de boro, cobre, ferro, manganês e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, n.5, p.1641-1652, 2010.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.10, p.18-46, 2011.

VILELA, R.G.; ARF, O.; KAPPES, C.; KANEKO, F.H.; GITTI, D.C.; FERREIRA, J.P. Desempenho agrônômico de híbridos de milho em função da aplicação foliar de fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.1, p.25-33, 2012.

WESP-GUTERRES, C.; BRUINSMA, J.S.; SEIDEL, G. Controle químico de doenças do milho. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v.25, p.2-7, 2015.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, v.92, p.487-511, 2003.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Mecanismos gerais dos nutrientes sobre a severidade de doenças de plantas In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZENÃO JÚNIOR, L.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa Departamento de fitopatologia, v.1, 2012. p. 25-45.

5. CAPÍTULO 4: CARACTERES AGRONÔMICOS E MANEJO DE DOENÇAS EM MILHO DE SEGUNDA SAFRA POR PRODUTOS À BASE DE CÁLCIO, COBRE, MANGANÊS E ZINCO

Resumo - O milho possui importância mundial sendo sua produtividade afetada pela ocorrência de diversas doenças. O objetivo deste estudo foi analisar se produtos à base de cobre, zinco, cálcio e manganês são eficientes para manejo de *Pantoea ananatis* e *Phaeosphaeria maydis*, *Puccinia polysora* e *Cercospora zae maydis* em milho de segunda safra, e se interferem nos caracteres agronômicos. Foram testados produtos comerciais quelatos de aminoácidos com os elementos cálcio 15%, cobre 5%, manganês 15% e zinco 10%, na dose de 0,5 kg ha⁻¹, 0,3 L ha⁻¹, 0,4 kg ha⁻¹ e 1 L ha⁻¹, respectivamente, um tratamento com fungicida (azoxistrobina 20% e ciproconazol 8% na dose de 0,3 L ha⁻¹ + propiconazol 25% na dose de 0,4 L ha⁻¹), e um tratamento com água. Os ensaios foram realizados em campo por dois anos consecutivos e em dois híbridos simples, em solo cuja fertilidade foi corrigida baseada na análise química do mesmo. Foram avaliados os caracteres agronômicos altura de plantas, diâmetro de colmo, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira da espiga, produtividade e massa de mil grãos. A severidade das doenças foi avaliada com escala diagramática ou através de estimativas de severidade, dependendo do patossistema, e os dados foram utilizados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença. Em nenhum dos anos estudados foi registrado efeito significativo dos quelatos para os caracteres agronômicos e para a severidade das doenças que ocorreram nas condições em que o estudo foi conduzido. Novos trabalhos em solos e ambientes diferentes e utilizando híbridos distintos poderão apresentar resultados satisfatórios, assim como em área onde se verifica deficiência destes nutrientes. Conclui-se através deste estudo que produtos à base de cálcio cobre, manganês e zinco não tem influência sobre caracteres agronômicos e severidade das doenças avaliadas em milho de segunda safra para as condições edafoclimáticas de condução dos trabalhos.

Palavras-chave: Controle alternativo. Nutrição e doença. *Zea mays* L.

AGRONOMIC CHARACTERS AND DISEASE MANAGEMENT IN CORN SECOND SEASON USING CALCIUM, COPPER, MANGANESE AND ZINC PRODUCTS

Abstract – Corn has global importance and its productivity is affected by the occurrence of several diseases. The aim of this study was to analyze copper, zinc, calcium and manganese

products for the management of *Pantoea ananatis* e *Phaeosphaeria maydis*, *Puccinia polysora* and *Cercospora zea maydis* in second season corn, and interference in agronomic traits. Commercial products made of chelated amino acid with the elements calcium 15%, copper 5%, manganese 15% and zinc 10%, at dose of 0.5 kg ha⁻¹, 0.3 L ha⁻¹, 0.4 kg ha⁻¹ and 1 L ha⁻¹, respectively, a treatment with fungicide (20% azoxystrobin and 8% ciproconazole at a dose of 0.3 L ha⁻¹ + 25% propiconazole at a dose of 0.4 L ha⁻¹), and treatment with water were assayed. The experiments were carried out in field for two consecutive years and in two simple hybrids, in soil supplemented with nutrients based on the chemical analysis. The agronomic characters plant height, stem diameter, number of rows per spike, number of grains per row of spike, productivity and mass of one thousand grains were evaluated. Disease severity was assessed by a diagrammatic scale or severity estimates, depending on the pathosystem, and the data were used to calculate the area under disease progress curve. In none of the years studied there was significant effect of chelates on the agronomic traits and on diseases severity. Further studies in different soils and environments using different hybrids may present satisfactory results, as well as in an area where deficiency of these nutrients is verified. It is concluded from this study that calcium, copper, manganese and zinc products have no influence on agronomic characteristics and severity of the diseases evaluated in second season corn for those edaphoclimatic conditions.

Keywords: Alternate control. Nutrition and plant disease. *Zea mays* L.

5.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura de suma importância, principalmente pelo fato de ser utilizado tanto como matéria prima, quanto na alimentação de animais e humanos (GALVÃO et al., 2014).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) (2019), o Brasil tornou-se o segundo maior exportador mundial de milho, sendo estimada para safra 2018/2019, produção superior a 95 milhões de toneladas com produtividade média esperada de 5.524 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

A adubação adequada corrobora para o bom desempenho da cultura e para níveis elevados de produtividade (FARINELLI et al., 2003). Este e outros caracteres agronômicos podem ser afetados por diversos fatores, sendo um deles a ocorrência de doenças (BRITO et

al., 2013), que tem se agravado pelo aumento do cultivo do milho em segunda safra (CARVALHO et al., 2016).

Entre as principais doenças que ocorrem na cultura do milho de segunda safra, pode-se citar a cercosporiose (*Cercospora zea-maydis* (T. Daniels)), a mancha-branca (complexo *Phaeosphaeria maydis* e *Pantoea ananatis*) e a ferrugem polysora (*Puccinia polysora*) (CARVALHO et al., 2016).

Diante dos prejuízos causados pelas doenças, várias medidas são recomendadas para o manejo delas, como a aplicação de fungicidas (WORDELL FILHO; CASA, 2010) e a nutrição de plantas (DUARTE et al., 2009).

O equilíbrio dos nutrientes nas plantas pode provocar mudanças em sua composição química, morfológica ou histológica, fazendo com que o desenvolvimento de certas doenças seja dificultado (BEDENDO et al., 2018).

De acordo com Zambolim e Ventura (2012), são mais de 15 elementos minerais essenciais para os vegetais, englobando tanto macro quanto micronutrientes, que segundo Bedendo et al. (2018), podem alterar a suscetibilidade das plantas e predispô-las à ocorrência de doenças. Entre estes elementos essenciais encontra-se cálcio, cobre, manganês e zinco (ORO et al., 2012).

Diante do exposto, busca-se através deste estudo verificar se produtos quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco, tem influência no manejo de doenças de parte aérea e nos caracteres agronômicos de dois híbridos simples de milho de segunda safra.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A condução do experimento ocorreu na segunda safra (safra de inverno) de dois anos consecutivos (2017 e 2018), no distrito de Novo Sarandi, município de Toledo, Paraná, coordenadas geográficas de 24°32'30" de latitude S e 53°54'32" de longitude O e altitude aproximada de 386 m. O solo do local é de textura argilosa, classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico, oriundo do basalto (SANTOS et al., 2013).

Anterior a implantação do experimento, na safra 2017, realizou-se a coleta do solo para análises química e física, e na safra de 2018, realizou-se novamente coleta para análise química, a fim de verificar as características na camada de 0-0,20 m (Tabela 1).

Tabela 2. Caracterização química e granulométrica (física) do LATOSSOLO Vermelho Eutroférico antes da implantação dos experimentos.

Segunda safra 2017								
Profundidade	H+Al	K	Al	Ca	Mg	SB	CTC	V
	cmol _c dm ⁻³							%
0 – 20 cm	6,69	0,28	0,0	8,06	2,14	10,4	17,17	61,04
			3			8		
Profundidade	C	P	pH	Fe	Mn	Cu	Zn	
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³				
0 – 20 cm	15,63	49,50	4,90	21,2	73,16	19,20	5,47	
				0				
Análise física (granulometria)								
Profundidade	Argila		Silte			Areia		
	g kg ⁻¹							
0 – 50 cm	662,5		162,5			175,0		
Segunda safra 2018								
Profundidade	H+Al	K	Al	Ca	Mg	SB	CTC	V
	cmol _c dm ⁻³							%
0 – 20 cm	5,76	0,42	0,00	6,67	2,61	9,70	15,46	62,74
Profundidade	C	P	pH	Fe	Mn	Cu	Zn	
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³				
0 – 20 cm	18,25	38,93	5,2	22,00	75,50	16,80	7,30	
Análise física (granulometria)								
Profundidade	Argila		Silte			Areia		
	g kg ⁻¹							
0 – 50 cm	662,5		162,5			175,0		

Extrator Melich: K - P - Fe - Mn - Cu e Zn; extrator KCl: Ca - Mg - Al; extrator HCl 0,05 N: B; extrator fosfato de cálcio: S; extrator dicromato de sódio: carbono

Os dados de precipitação e temperatura no período de condução das duas segunda safras (2017 e 2018) estão apresentados na Figura 1, sendo os resultados obtidos a partir de pluviômetro e termo higrômetro instalados no local da condução do experimento, com registro diário dos resultados.

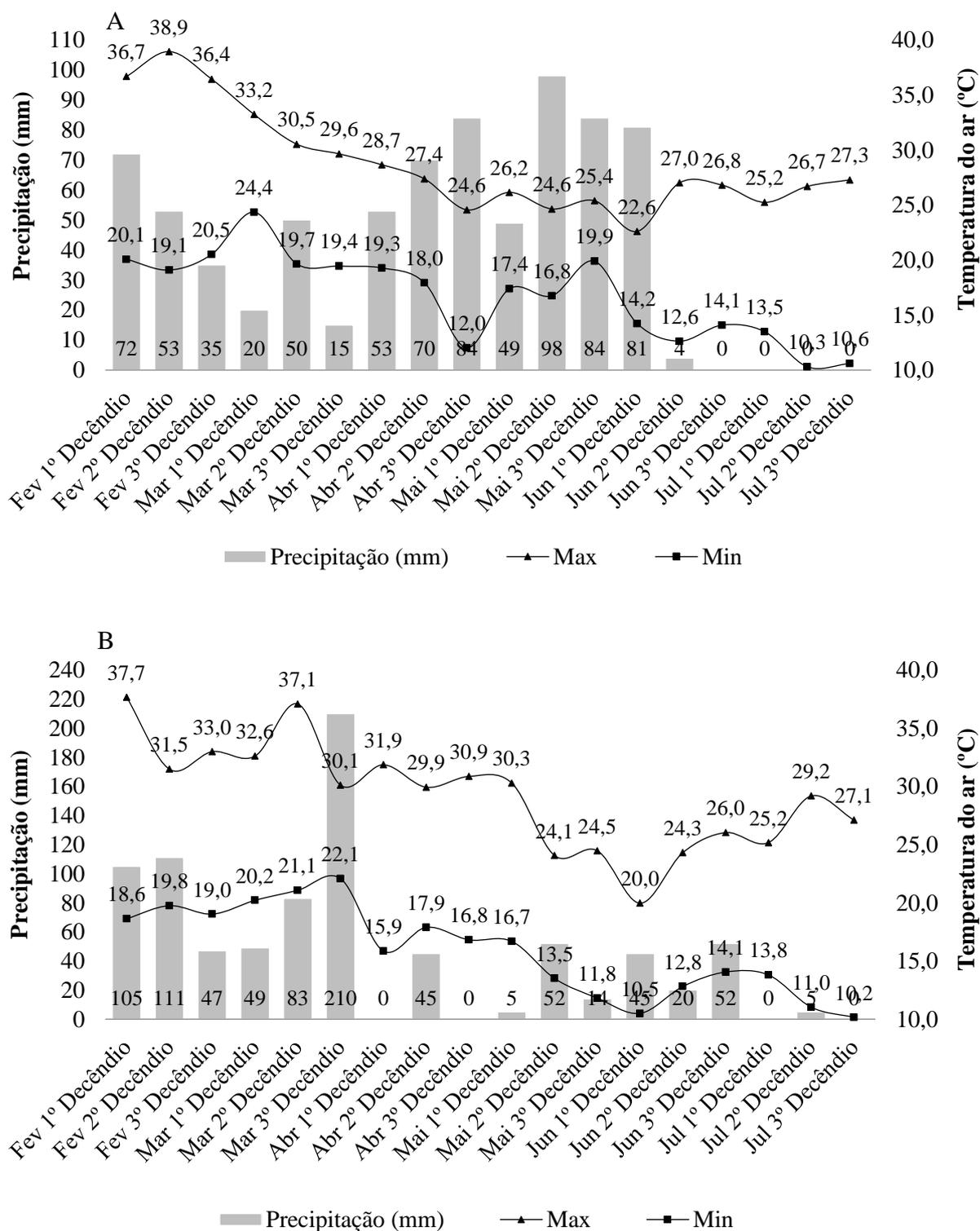


Figura 1. Média da temperatura e precipitação pluvial total por decêndio registradas durante o período da segunda safra de 2017 (A) e 2018 (B) em Novo Sarandi, Toledo - PR.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 6, sendo dois híbridos e seis tratamentos foliares (cálcio, cobre, manganês, zinco, fungicida e água).

A área do experimento foi dividida em quatro blocos com um total de 48 parcelas experimentais com área útil de 10,8 m² (4,0 m de comprimento x 0,90 m entre linhas x 3 linhas) e apresentando cinco linhas com espaçamento de 0,90 m entre linhas, das quais foram avaliadas duas linhas centrais para os caracteres agrônômicos e análises de severidade das doenças, restando no mínimo uma linha de bordadura em cada lateral da parcela, visando minimizar o efeito de bordadura. O comprimento total de cada linha na parcela foi de 5,0 m com 26 plantas finais, totalizando 130 plantas por parcela (57.777 plantas ha⁻¹). Desconsiderou-se no mínimo 0,5 m de cada extremidade da linha, no intuito de diminuir o possível efeito de deriva do tratamento realizado nas parcelas adjacentes.

Foram utilizados dois híbridos simples, 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA os quais possuem recomendação para cultivo no Oeste do Paraná. Os híbridos foram escolhidos buscando diferenças de tolerância, resistência e suscetibilidade para as principais doenças foliares frequentes na região, e também buscando semelhança no ciclo para que houvesse coincidência do estágio fenológico no momento da aplicação dos produtos e das avaliações.

As sementeiras foram realizadas nos dias 23/02/2017 e 24/02/2018 em sistema direto, sobre palhada de milho (*Zea mays* L.) utilizando trator Ford modelo 7630 e semeadora Metasa Kuhn PDM PV 900 de cinco linhas com conjunto de corte adaptado para sementeira direta.

A adubação no momento da sementeira foi realizada levando em consideração os resultados da análise química do solo, utilizando 310 kg ha⁻¹ da fórmula 11-19-14 (NPK), contendo 34 kg de nitrogênio (N), 59 kg de fósforo (P₂O₅), 43 kg de potássio (K₂O), 0,375 kg de boro, 0,375 kg de cobre, 0,750 kg de manganês e 0,750 kg de zinco. Para adubação de cobertura utilizou-se uréia em duas aplicações, a primeira no estágio fenológico V₃ com 70 kg ha⁻¹ de N e a segunda em V₆ com 70 kg ha⁻¹ de N, objetivando produtividade superior a 12.000 kg ha⁻¹ (PAULETTI; MOTTA, 2019).

Foram realizadas capinas manuais conforme a necessidade, e para o controle de insetos pragas foram realizadas duas aplicações, sendo a primeira de tiametoxam + lambda-cialotrina na dose de 0,25 L ha⁻¹ quando as plantas estavam no estágio fenológico V₁, e a segunda de imadacloprido + beta-ciflutrina 1 L ha⁻¹, quando as plantas estavam no estágio fenológico V₃.

Como tratamentos foliares foram utilizados produtos quelatados entre aminoácidos e os elementos cálcio 15%, cobre 5%, manganês 15% e zinco 10%, na dose de 0,5 kg ha⁻¹, 0,3 L ha⁻¹

¹, 0,4 kg ha⁻¹ e 1 L ha⁻¹, respectivamente, um fungicida a base de azoxistrobina 20% e ciproconazol 8% na dose de 0,3 L ha⁻¹ + propiconazol 25% na dose de 0,4 L ha⁻¹, e água.

Os tratamentos foram administrados 30 e 50 dias após a emergência, quando mais de 50% das plantas encontravam-se nos estádios fenológicos V₈ e V_T, respectivamente. Nos dois estádios a aplicação foi realizada utilizando pulverizador costal modelo Jacto PJH 20 L com ponteira de pulverização de jato cônico vazio Jacto ATR 1.5 ângulo de 80° utilizando volume de calda de 100 L ha⁻¹. Todos os tratos culturais foram realizados igualmente em todas as parcelas, com exceção da aplicação dos produtos estudados.

Como caracteres agronômicos avaliou-se altura de plantas, diâmetro de colmo, número de fileiras de grãos, número de grãos por fileira, massa de mil grãos e produtividade.

Para determinação da altura de planta, utilizou-se fita métrica, medindo do solo até a curvatura da folha bandeira, em 10 plantas aleatórias da área útil da parcela, sendo este processo realizado uma semana após a floração.

Para avaliação do diâmetro de colmo, mensurou-se com auxílio de paquímetro digital em milímetros, nas mesmas 10 plantas utilizadas na obtenção da altura de planta, a metade do primeiro entrenó expandido, obtendo assim, o diâmetro médio basal dos colmos da parcela. Esta avaliação foi realizada em pleno florescimento feminino (estilo-estigma visíveis).

Foram amostradas dentro da área útil de cada parcela, 20 espigas sendo estas colhidas manualmente, para contagem do número de fileiras de grãos em cada espiga amostrada, obtendo assim o número médio de fileiras de grãos por espiga. Nestas mesmas espigas realizou-se a contagem do número de grãos por fileira, sendo obtido o número médio de fileiras de grãos por espiga.

Após, realizou-se a debulha das espigas e a mensuração da umidade e da massa total dos grãos, sendo, através destes dados e dos dados da área útil da parcela, possível calcular a produtividade por unidade de área, registrado na forma de kg ha⁻¹ com umidade corrigida para 14%, conforme Regra Brasileira de Análises de Sementes (BRASIL, 2009).

Para determinação da massa de mil grãos foram contadas oito amostras de 100 grãos para cada tratamento, as quais após identificadas e pesadas em balança de precisão, foram secas em estufa de circulação de ar forçada, à 105 °C, até massa constante, sendo as amostras novamente pesadas após este processo e realizada a conversão da umidade de grãos para 14% (base úmida). Através de regra de três simples, encontrou-se a massa de 1000 grãos.

A severidade das doenças foi avaliada conforme o aparecimento espontâneo das lesões, a partir da infecção natural dos patógenos. O percentual de área foliar com sintomas da doença foi mensurado por meio de escala diagramática específica para cada doença, quando disponível

em literatura, num intervalo de sete dias, iniciado com o surgimento dos primeiros sintomas até o momento em que a folha avaliada, abaixo e oposta à espiga, secasse. Foram avaliadas a cada sete dias, folhas de 10 plantas dentro da área útil de cada parcela e através dos dados de severidade obtidos, realizou-se o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença utilizando a equação de Shaner e Finney (1977).

Na segunda safra de 2017 houve incidência de mancha branca, cercosporiose e ferrugem polysora, portanto, utilizou-se a escala diagramática proposta por Sachs et al. (2011) para mancha branca, a escala diagramática proposta por Fantin (1997) para avaliação da severidade da ferrugem, e para cercosporiose, não se encontrou escala disponível na literatura, sendo estimado valores de severidade levando em consideração as demais escalas utilizadas.

Na segunda safra de 2018 houve a incidência das mesmas doenças de 2017, exceto ferrugem polysora que não esteve presente em níveis possíveis de ser avaliada. Para mancha branca e cercosporiose foram utilizados os mesmos métodos e escala de avaliação de severidade adotados na segunda safra de 2017.

Para análise estatística utilizou-se o software livre Genes (CRUZ, 2013) sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância apresentada na Tabela 2, é possível verificar tanto na segunda safra de 2017 quanto na segunda safra de 2018, significância dos tratamentos para a característica produtividade. Já para a variável massa de mil grãos, na segunda safra de 2018, foi verificado efeito significativo da interação entre híbridos e tratamentos (Tabela 2), demonstrando que um mesmo tratamento pode comportar-se diferente dependendo do híbrido, sendo necessário levar em consideração estes dois fatores.

Para todas as variáveis avaliadas, nos dois anos de condução do experimento, houve efeito significativo para os híbridos, mas estes dados não foram mostrados e discutidos, pois o objetivo deste estudo foi verificar o comportamento dos tratamentos independente do híbrido, visto que estes já possuem diferenças esperadas por apresentarem características genéticas distintas (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para altura de plantas, diâmetro de colmo, número de fileiras por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), massa de mil grãos (MMG) e produtividade, em função de seis tratamentos foliares (cálcio, cobre, manganês, zinco, fungicida e água) e dois híbridos (30A37PW e FÓRMULA VIPTERA). Novo Sarandi, Toledo - PR, segunda safra 2017 e 2018.

Fator de Variação	G L	Quadrado Médio das Características					
		Altura	Diâmetro	NFE	NGF	MMG	Produtividade
Safrinha 2017							
Blocos	3	0,0006	0,99	0,14	2,31	228,02	881081,01
Tratamentos (T)	5	0,0015 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,13 ^{ns}	1,23 ^{ns}	380,49 ^{ns}	1483476,06*
Híbridos (H)	1	0,09**	349,43**	68,88**	17,94**	46472,49**	9175179,40**
Interação T x H	5	0,0009 ^{ns}	1,36 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,96 ^{ns}	390,09 ^{ns}	1876321,92 ^{ns}
Resíduo	33	0,0036	3,68	0,11	1,05	168,43	596437,08
Média Geral		2,05	21,13	16,46	35,55	241,96	11185,05
CV (%)		2,94	9,08	2,07	2,88	5,36	6,55
Safrinha 2018							
Fator de Variação	G L	Altura	Diâmetro	NFE	NGF	MMG	Produtividade
Blocos	3	0,0002	1,02	0,016	0,312	5,25	59333,07
Tratamentos (T)	5	0,0011 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,419 ^{ns}	394,82*	1090793,98*
Híbridos (H)	1	0,07**	223,17**	34,00**	4,625*	29677,59**	3938973,54**
Interação T x H	5	0,0017 ^{ns}	1,14 ^{ns}	0,11 ^{ns}	1,096 ^{ns}	291,86*	240003,24 ^{ns}
Resíduo	33	0,004	4,08	0,10	0,807	110,05	393498,53
Média Geral		2,06	20,80	15,76	37,84	359,97	12847,23
CV (%)		3,20	9,72	2,05	2,37	2,91	4,88

^{ns}: não significativo; *: significativo a 5% de probabilidade, e **: significativo a 1% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.

Pode-se observar na Tabela 3 que para a produtividade na segunda safra de 2017, o fungicida e a água mostraram-se diferentes estatisticamente entre si, porém, todos os demais tratamentos não diferiram estatisticamente nem do fungicida, nem da água.

Tabela 3. Produtividade (Kg ha⁻¹) de milho, híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, segunda safra 2017.

Tratamento	Produtividade (Kg ha⁻¹)	
Cálcio	11.215	ab
Cobre	11.188	ab
Manganês	11.439	ab
Zinco	10.881	ab
Fungicida	11.812	a
Água	10.572	b
DMS	1.108	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

DMS: diferença mínima significativa.

Para a variável massa de mil grãos na segunda safra de 2018, conforme a Tabela 4, para todos os tratamentos a maior massa foi registrada para o híbrido 30A37PW. Para este híbrido, todos os tratamentos mostraram-se iguais estatisticamente, enquanto que para o híbrido FÓRMULA VIPTERA, a maior massa de mil grãos ocorreu com o uso do fungicida, sendo todos os demais iguais a água. Este resultado demonstra dependência entre os tratamentos e os híbridos, ou seja, um determinado tratamento pode possuir comportamento distinto dependendo do híbrido em que for aplicado.

Assim, observa-se que não houve incremento da massa de mil grãos com a utilização de cálcio, cobre, manganês ou zinco, visto que não diferiram da água em nenhum dos híbridos estudados. Apenas o fungicida, para o híbrido FÓRMULA VIPTERA, apresentou incremento da massa de mil grãos, diferindo dos demais. Este incremento provavelmente ocorreu pelo fato do fungicida apresentar efeito sobre fungos causadores de doenças, os quais levam à degradação e perda de qualidade dos grãos (RAMOS et al., 2010; MENDES et al., 2011). Possivelmente, pelo fato do híbrido FÓRMULA VIPTERA ser mais suscetível às doenças que ocorreram durante a condução do experimento, o efeito do fungicida tenha sido mais perceptível, visto que o híbrido 30A37PW apresentou, para todas as doenças estudadas, menor suscetibilidade com

menores valores de severidade, o que pode ter contribuído para os resultados obtidos nos caracteres agronômicos.

De acordo com Cunha et al. (2010), a massa dos grãos é influenciada de forma direta pelo uso de fungicidas, pois são capazes de preservar a área foliar, responsável pela fotossíntese por mais tempo, podendo se estender até o enchimento de grãos, que de acordo com Brito et al. (2011) faz parte do período crítico da cultura do milho, pois qualquer estresse, como por exemplo, a diminuição do área fotossintética entre a pré floração e o início do enchimento dos grãos, leva a perdas significativas na produção.

Tabela 4. Massa de mil grãos de milho, híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, segunda safra 2018.

Tratamento	30A37PW		FÓRMULA VIPTERA	
Cálcio	386,06	Aa	326,33	Bb
Cobre	390,26	Aa	328,94	Bb
Manganês	384,83	Aa	328,50	Bb
Zinco	382,74	Aa	334,29	Bb
Fungicida	388,73	Aa	359,08	Ba
Água	376,40	Aa	333,51	Bb
DMS	15,10		22,42	

*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significante.

Para a produtividade na segunda safra de 2018, o fungicida e a água mostraram-se diferentes estatisticamente, sendo todos os demais tratamentos iguais tanto ao fungicida quanto a água (Tabela 5).

Tabela 5. Resultado médio da produtividade (Kg ha⁻¹) de milho, híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2018.

Tratamento	Produtividade (Kg ha⁻¹)	
Cálcio	12.66	ab
Cobre	12.76	ab
Manganês	12.75	ab
Zinco	12.76	ab
Fungicida	13.58	a
Água	12.55	b
DMS	948.00	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

DMS: diferença mínima significativa.

Observou-se que para produtividade, nos dois anos de condução do experimento, os quelatos (cálcio, cobre, manganês e zinco) não diferiram da água e do fungicida. Como já verificado em diversos estudos, o fungicida manteve níveis mais altos de produtividade (ROSA et al., 2017; ECCO et al., 2014; HENRIQUES et al., 2014).

O provável modo de atuação desses produtos quelatados seria por auxiliarem na indução de resistência ou possuírem ação fungitóxica direta sobre alguns patógenos causadores de doenças as quais limitam a produtividade e os caracteres agronômicos relacionados às mesmas. Para verificar essas influências, novos estudos deveriam ser realizados estudando enzimas ou estruturas envolvidas no processo de indução de resistência nas plantas de milho tratadas, ou ainda, estudos verificando a ação fungitóxica direta desses quelatos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco sobre os patógenos, como sobre a germinação de esporos.

Tanto a maior massa de mil grãos quanto a maior produtividade verificada na segunda safra de 2018 com a utilização do híbrido 30A37PW, pode ter ocorrido por este híbrido ter apresentado menor severidade de doenças, uma vez que apresenta menor suscetibilidade que o híbrido FÓRMULA VIPTERA às doenças que ocorreram durante o período de condução do experimento.

Em trabalho realizado por Manfroi et al. (2016), os autores obtiveram melhores resultados de rendimento de grãos de milho realizando duas aplicações do mesmo fungicida utilizado neste estudo e nos mesmos estádios fenológicas de aplicação. Rosa et al. (2017)

também obtiveram aumento de produtividade de milho comparando a água, utilizando fungicida (azoxistrobina + ciproconazol).

Zambolim e Ventura (2012) afirmam que elevadas produtividades são dependentes da fertilidade com minerais, mas também do manejo correto para controle tanto de pragas como doenças. Segundo esses autores, os fatores mais importantes que influenciam no rendimento das culturas são os nutrientes essenciais e as doenças.

Como o solo encontrava-se corrigido antes da implantação dos experimentos e pelo fato de ter sido utilizada adubação de base adequada, contendo inclusive micronutrientes, pode ser que a aplicação dos nutrientes via foliar não tenha sido necessária, fato que contribuiu para que não fossem verificados incrementos expressivos nos caracteres agrônômicos estudados.

A incidência de doenças na segunda safra de 2017 e 2018 foi parecida, sendo que em ambas ocorreram mancha branca e cercosporiose, enquanto que ferrugem ocorreu apenas na segunda safra de 2017. Geralmente devido a mudanças no ambiente com temperaturas e chuvas distintas, são registradas diferentes doenças influenciadas pela presença do patógeno na área ou na chegada deste no local (ZAMBOLIM; VENTURA, 2012).

A Tabela 6 apresenta a análise de variância para as duas segundas safras avaliadas. Na segunda safra de 2017, houve interação significativa para a mancha branca e a cercosporiose, enquanto que, para a ferrugem, apenas híbridos foram significativos, sendo estes dados não mostrados e discutidos.

Para a segunda safra de 2018, tratamentos e híbridos foram significativos para mancha branca, enquanto que para cercosporiose, a interação entre híbridos e tratamentos foi significativa, demonstrando dependência entre híbridos e tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo da análise de variância para mancha branca, cercosporiose e ferrugem polysora na safrinha 2017 e resumo da análise de variância para mancha branca e cercosporiose em função de seis tratamentos foliares (cálcio, cobre, manganês, zinco, fungicida e água) e dois híbridos simples (30A37PW e FÓRMULA VIPTERA) na safrinha 2018, Novo Sarandi, Toledo - PR, 2018.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio das Doenças		
		Mancha Branca	Cercosporiose	Ferrugem polysora
Segunda safra 2017				
Blocos	3	63,83	55,60	23,40
Tratamentos (T)	5	5535,49**	5513,16**	135,78 ^{ns}
Híbridos (H)	1	1250193,91**	331269,87**	62204,40**
Interação T x H	5	2538,87**	1924,36**	108,07 ^{ns}
Resíduo	33	200,23	379,62	150,81
Média Geral		193,02	125,20	41,33
CV (%)		7,33	15,56	29,70
Fator de Variação	GL	Quadrado Médio das Doenças		
		Mancha Branca	Cercosporiose	
Segunda safra 2018				
Blocos	3	51,57	1170,02	
Tratamentos (T)	5	687,75**	27352,04**	
Híbridos (H)	1	12716,63**	2424985,09**	
Interação T x H	5	58,01 ^{ns}	6923,31**	
Resíduo	33	37,86	1174,90	
Média Geral		42,68	384,54	
CV (%)		14,41	8,91	

^{ns}: não significativo; *: significativo a 5% de probabilidade; e **: significativo a 1% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.

De acordo com a Tabela 7, a severidade de mancha branca na segunda safra de 2017 foi superior estatisticamente no híbrido FÓRMULA VIPTERA. Não foi registrada diferença entre cálcio, cobre, manganês, zinco, fungicida e água no híbrido 30A37PW, diferentemente do registrado no híbrido FÓRMULA VIPTERA, para o qual o fungicida diferiu dos demais apresentando menor severidade desta doença.

A diferença dos níveis de severidade registrados para os híbridos avaliados ocorreu provavelmente, pelo fato do 30A37PW ser moderadamente resistente a mancha branca, enquanto o FÓRMULA VIPTERA é moderadamente suscetível (CRUZ et al., 2015).

Tabela 7. Área abaixo da curva de progresso da mancha branca para milho tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco, utilizando os híbridos 30A37 e FÓRMULA VIPTERA em Novo Sarandi, Toledo - PR, segunda safra 2017.

Tratamento	30A37PW		FÓRMULA VIPTERA	
Cálcio	33,78	Ba	370,65	Aa
Cobre	31,98	Ba	360,51	Aa
Manganês	32,32	Ba	364,76	Aa
Zinco	34,71	Ba	374,63	Aa
Fungicida	15,44	Ba	366,72	Ab
Água	41,59	Ba	389,21	Aa
DMS	19,58		29,08	

*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significante.

Na interação registrada para severidade de cercosporiose na segunda safra de 2017, Tabela 8, observou-se diferença entre os híbridos estudados. Para o híbrido 30A37PW, os tratamentos não apresentaram diferença significativa, já para o híbrido FÓRMULA VIPTERA, o fungicida apresentou menor severidade da doença, diferindo estatisticamente do cálcio, cobre, manganês, zinco e água.

O híbrido 30A37PW possui resistência moderada contra cercosporiose (*Cercospora zea-maydis*) (PEREIRA FILHO; BORGHI, 2016; CRUZ et al., 2015), o que pode justificar a menor severidade registrada comparado aos valores de severidade registrados para o híbrido FÓRMULA VIPTERA, que é suscetível (CRUZ et al., 2015).

Em estudo preliminar realizado *in vitro* em que se estudou a germinação de esporos de *Cercospora* em meio de cultura em função da aplicação dos mesmos tratamentos utilizados neste estudo, verificou-se diminuição do número de esporos germinados comparado a água. Em outro estudo preliminar utilizando as próprias folhas de milho e em que os tratamentos foram administrados em diferentes tempos (zero, uma, duas, três, quatro e cinco horas após o tratamento) novamente verificou-se diminuição no número de esporos germinados nos tempos zero, um, dois e três horas após o tratamento (dados não mostrados).

Estes resultados divergentes em estudo *in vitro* e *in vivo* podem ser justificados pelo fato do ambiente, que *in vitro* é controlado, enquanto *in vivo*, ou seja, a campo, não há condições de controle, além de que a pressão de inóculo, que também muda.

Tabela 8. Área abaixo da curva de progresso da cercosporiose para milho, híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, segunda safra 2017.

Tratamento	30A37PW		FÓRMULA VIPTERA	
Cálcio	46,86	Ba	215,77	Aa
Cobre	42,27	Ba	215,92	Aa
Manganês	45,09	Ba	218,75	Aa
Zinco	47,92	Ba	227,50	Aa
Fungicida	20,56	Ba	126,26	Ab
Água	50,06	Ba	245,47	Aa
DMS	20,13		29,88	

*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significante.

Para a mancha branca na segunda safra de 2018 os tratamentos cálcio, cobre, manganês, zinco e água foram todos estatisticamente iguais, diferindo apenas do fungicida, que apresentou valores menores de severidade de mancha branca (Tabela 9).

Conforme a bula do fungicida utilizado e trabalhos disponíveis na literatura, este princípio ativo é capaz de controlar mancha branca, o que justifica os valores menores de severidade registrados.

Tabela 9. Área abaixo da curva de progresso da mancha branca em milho, híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, 2018.

Tratamento	Mancha Branca	
Cálcio	46,76	a
Cobre	41,83	a
Manganês	47,42	a
Zinco	47,31	a
Fungicida	24,35	b
Água	48,40	a
DMS	9,29	

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

DMS: diferença mínima significativa.

Na segunda safra de 2018, assim como verificado na segunda safra de 2017, os valores de severidade foram maiores para o híbrido FÓRMULA VIPTERA (Tabela 10), provavelmente devido as características de cada híbrido, como por exemplo, a suscetibilidade do híbrido FÓRMULA VIPTERA (CRUZ et al., 2015), e a resistência moderada do híbrido 30A37PW (PEREIRA FILHO; BORGHI, 2016) para o patógeno causador da cercosporiose.

Para o híbrido 30A37PW o fungicida diferiu estatisticamente da água, enquanto os quelatos não diferiram nem da água nem do fungicida. Já para o híbrido FÓRMULA VIPTERA, apenas o fungicida diferiu estatisticamente dos demais tratamentos apresentando valor inferior de severidade de cercosporiose, o que é justificado pelo produto ter ação sobre esta doença.

Tabela 10. Área abaixo da curva de progresso da cercosporiose em milho, híbridos 30A37PW e FÓRMULA VIPTERA, tratado com quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco. Novo Sarandi, Toledo - PR, segunda safra 2018.

Tratamento	30A37PW	FÓRMULA VIPTERA		
Cálcio	167,63	Bab	642,175	Aa
Cobre	160,45	Bab	633,77	Aa
Manganês	165,08	Bab	640,42	Aa
Zinco	169,25	Bab	645,67	Aa
Fungicida	102,33	Bb	431,92	Ab
Água	193,90	Ba	661,90	Aa
DMS	49,34		73,25	

*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). DMS: diferença mínima significativa.

Jardine e Laca-Buendia (2009) observaram diminuição da severidade de mancha branca e cercosporiose em milho, com a utilização de azoxistrobina + ciproconazole no pré V_T , assim como Vilela et al. (2012), aplicando piraclostrobina + epoxiconazol e azoxistrobina + ciproconazol, também verificaram menor severidade e incidência de doenças nas folhas de milho.

Diversos estudos demonstram que plantas nutridas adequadamente são menos suscetíveis à incidência de patógenos (MARSCHNER, 2012), enquanto que excesso e deficiência de certos nutrientes pode ser responsável pela predisposição das plantas a incidência dos patógenos, tanto por alterar a composição e o crescimento do vegetal, quanto por influenciar a atividade microbiana direta sobre as folhas e no solo (BEDENDO et al., 2018).

Zambolim e Ventura (2012) também mencionam que os nutrientes podem afetar os mecanismos de resistência das plantas agindo tanto na formação de barreiras mecânicas como, por exemplo, a espessura da parede celular, quanto na síntese de compostos de defesa, como por exemplo fitoalexinas, antioxidantes e compostos secundários. Estes mesmos autores também relatam que os nutrientes podem agir sobre o crescimento das plantas, o que interfere nas doenças, pois o desenvolvimento das plantas pode afetar o microclima na cultura e, conseqüentemente, a infecção e esporulação do patógeno. Adicionalmente, este crescimento da planta pode afetar a sua composição biológica, podendo fazer com que a planta escape de infecções do patógeno em sua fase mais suscetíveis.

Estas afirmações podem justificar o fato de os quelatos não terem apresentado eficiência sobre a diminuição da incidência dos patógenos estudados, afinal, foi realizada correção e os níveis tanto de cálcio, como cobre, manganês e zinco, apresentavam-se adequados (PAULETTI; MOTTA, 2019) não havendo, portanto, a necessidade da aplicação destes nutrientes via foliar. Em casos de deficiência de alguns destes nutrientes é possível que resultados mais expressivos e promissores sejam relatados.

Zambolim e Ventura (2012) também afirmam que plantas que passam por estresses de nutrientes são mais suscetíveis que plantas nutridas adequadamente, as quais se tornam suscetíveis ou resistentes a doenças. Estes autores também afirmam que o impacto dos nutrientes sobre as doenças de plantas pode variar, podendo um mesmo nutriente diminuir a incidência de uma doença e aumentar a incidência de outra. Diante destas afirmações, novos estudos em casa de vegetação, com inoculação de apenas um patógeno específico, poderiam contribuir para resultados mais expressivos, visto que neste estudo várias doenças ocorreram simultaneamente.

As várias interações que ocorrem entre os nutrientes em um determinado sistema variam muito e influenciam a interação entre os mesmos, fazendo com que a absorção, disponibilidade e eficiência sejam afetadas (BORGES et al., 2009; PINHO et al., 2009; SCHERER, 1998; SETIYONO et al., 2010; SOUZA et al., 2010). Diante do exposto, os diferentes sistemas devem ser estudados a fim de compreender estas interações e encontrar o equilíbrio entre os nutrientes, já que de acordo com Gott et al. (2014) é preciso que todo o sistema esteja equilibrado para que se alcance resultados satisfatórios.

5.4 CONCLUSÃO

Os quelatos entre aminoácidos e os elementos cálcio, cobre, manganês e zinco não foram capazes de influenciar os caracteres agronômicos de milho de segunda safra, nem diminuir a severidade das doenças avaliadas nas condições edafoclimáticas em que o experimento foi realizado. O fungicida proporcionou redução de até 50% na AACPD de tanto de mancha branca quanto de cercosporiose, e por consequência a produtividade foi até 12% maior com relação a água.

5.5 REFERÊNCIAS

BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; MATTOS-JR, D. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**: princípios de conceitos. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 93-103.

BORGES, I.D.; PINHO, R.G. VON; PEREIRA, J.L.A.R. Acúmulo de micronutrientes em híbridos de milho em diferentes estádios de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.4, p.1018-1025, 2009.

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

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G.; PEREIRA, J.L.A.R.; BALESTRE, M. Controle químico da Cercosporiose, Mancha-Branca e dos Grãos Ardidos em milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.60, n.5, p.629-635, 2013.

BRITO, C.H.; SILVEIRA, D.L.; BRANDÃO, A.M.; GOMES, L.S.; LOPES, M.T.G. Redução de área foliar em milho em região tropical no Brasil e os efeitos em caracteres agronômicos. **Interciencia**, Caracas, v.36, p.291-295, 2011.

CARVALHO, R.V.; PEREIRA, O.A.P.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia**: Doenças das plantas cultivadas. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v. 2, 2016. p. 549-560.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos. **Monitoramento agrícola – Safra 2019/20**, v.7. Safra 2019/20, n.3. Terceiro Levantamento, 2019.

CRUZ, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; BORGHI, E.; SIMÃO, E.P. **Quatrocentas e Setenta e Sete Cultivares de Milho estão Disponíveis no Mercado de Sementes do Brasil para a Safra 2015/16**. Documentos 184. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 28p. 1 edição.

CUNHA, J.P.A.R.; SILVA, L.L.; BOLLER, W.; RODRIGUES, J.F. Aplicação aérea e terrestre de fungicida para o controle de doenças do milho. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 366-372, 2010.

DUARTE, R.P.; JULIATTI, F.C.; FREITAS, P.T. Eficácia de diferentes fungicidas na cultura do milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 101-111, 2009.

ECCO, M.; ROSSET, J.S.; RAMPIM, L.; COSTA, A.C.T.; LANA, M.C.; STANGARLIN, J.R.; SARTO, M.V.M. Características agronômicas de híbridos de milho segunda safra submetidos à aplicação de fungicida. **Agrarian**, Dourados, v.7, n.26, p.504-510, 2014.

FANTIN, G.M. Avaliação de resistência do milho a ferrugem causada por *Puccinia polysora* Underw. 1997. 136f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

FARINELLI, R.; PENARIOL, F.G.; BORDIN, L.; COICEV, L.; FORNASIERI FILHO, D. Desempenho agrônômico de cultivares de milho nos períodos de safra e safrinha. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.2, p.235-241, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Production: crops. 2019. Disponível em: <www.faostat.fao.org>. Acesso em: 30 mai. 2019.

GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V.; TROGELLO, M.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, n.2, p.819-828, 2014.

GOTT, R.M.; AQUINO, L.A.; CARVALHO, A.M.X.; SANTOS, L.P.D.; NUNES, P.H.M.P.; COELHO, B.S. Índices diagnósticos para interpretação de análise foliar do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.11, p.1110-1115, 2014.

HENRIQUES, M.J.; OLIVEIRA NETO, A.M.; GUERRA, N.; OLIVEIRA, N.C.; CAMACHO, L.R.S.; GONZALO JÚNIOR, O.A. Controle de Helminthosporiose em milho pipoca com a aplicação de fungicidas em diferentes épocas. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, Ponta Grossa, v.9, n.2, p.45-57, 2014.

JARDINE, D. F.; LACA-BUENDIA, J. P. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 6, p. 11-52, 2009.

MANFROI, E.; LANGHINOTTI, C.; DANELLI, A.; PARIZE, G. Controle químico de doenças foliares e rendimento de grãos na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.15, n.2, p.357-365, 2016.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. New York: Academic Press, 3. ed. London: Elsevier, 2012. 643p.

MENDES, S.C.; PIMHO, R.G.V.; MACHADO, J.C.; ALBUQUERQUE C.J.B.; FALQUETE, J.C.F. Qualidade sanitária de grãos de milho com e sem inoculação a campo dos fungos causadores de podridões de espiga. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 931-939, 2011.

ORO, O.; SILVA, C.A.T.; DIAS-ARIEIRA, C.R. Indução de resistência a doenças na cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.1, n.1, p.148-154, 2012.

PAULETTI, V.; MOTTA, A.C.V. Calagem e adubação para as principais espécies de cereais cultivadas no estado do Paraná. In: _____. Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. 1. ed. Curitiba: SBCS/NEPAR, 2019. cap. 8, p.83-109.

PINHO, R.G. VON; BORGES, I.D.; PEREIRA, J.L.A.R.; REIS, M.C. Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.8, n.2, p.157-173, 2009.

PEREIRA FILHO, I.A.; BORGHI, E. **Mercado de Sementes de Milho no Brasil: Safra 2016/2017**. Documentos 202. Sete lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 28p. 1 edição.

RAMOS, A.T.M.; MORAES, M.H.D.; CARVALHO, R.V.; CAMARGO, L.E.A. Levantamento da micoflora presente em grãos ardidos e sementes de milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 257-259, 2010.

ROSA, W.B.; DUARTE JÚNIOR, J.B.; QUEIROZ, S.B.; PEREGO, I.; MATTEI, E. Desempenho agrônômico de cinco híbridos de milho submetidos à aplicação de fungicida em diferentes estádios fenológicos. **Revista Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.25, n.05, p.428-435, 2017.

SACHS, P. J. D.; NEVES, C.S.V.J.; CANTERI, M.G.; SACHS, L.G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.4, p.202-204, 2011.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.T.K.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. rev. e ampl., Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353p.

SCHERER, E.E. Resposta da soja à adubação potássica em Latossolo Húmico distrófico num período de doze anos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.1, p.49-55, 1998.

SETIYONO, T.D.; WALTERS, D.T.; CASSMAN, K.G.; WITT, C.; DOBERMANN, A. Estimating maize nutrient uptake requirements. **Field Crops Research**, Kansas, v.118, n.2, p.158-168, 2010.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, p. 1051-1056, 1977.

SOUZA, L.H.; NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.V.; VILLANI, E.M.A. Efeito do pH do solo rizosférico e não rizosférico de plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* na absorção de boro, cobre, ferro, manganês e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, n.5, p.1641-1652, 2010.

WORDELL FILHO, J.A.; CASA, R.T. Doenças na cultura do milho. In: WORDELL FILHO, J.A.; ELIAS, H.T. **A cultura do milho em Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2010, p.207-273.

VILELA, R.G.; ARF, O.; KAPPES, C.; KANEKO, F.H.; GITTI, D.C.; FERREIRA, J.P. Desempenho agrônômico de híbridos de milho em função da aplicação foliar de fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.1, p.25-33, 2012.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Mecanismos gerais dos nutrientes sobre a severidade de doenças de plantas In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZENÃO JÚNIOR, L.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa Departamento de fitopatologia, v.1, 2012. p. 25-45.

6 CAPÍTULO 5: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA MANCHA FOLIAR DE *Diplodia macrospora* EM MILHO

Resumo - O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar uma escala diagramática para avaliação da severidade da mancha foliar causada pelo fungo *Diplodia macrospora*, em folhas de milho, considerando os limites de severidade mínima e máxima da doença e os níveis intermediários de acordo com a "Lei de resposta ao estímulo de Weber-Fechner". A escala proposta apresenta seis níveis de severidade: 0,5%; 3%; 8%; 23%; 36% e 55% da área foliar afetada. A validação foi realizada por oito avaliadores sendo quatro inexperientes e quatro experientes, os quais estimaram a severidade de 60 folhas de milho que apresentavam níveis variados de sintomas da doença, primeiramente sem a utilização da escala diagramática e, posteriormente, com o uso da escala proposta. Pela análise de regressão verificou-se a relação entre o grau de severidade real e o estimado por cada avaliador, com e sem o uso da escala. Com a utilização da escala, tanto os avaliadores inexperientes como os experientes demonstraram maiores níveis de acurácia e precisão.

Palavras-chave: Avaliação de doença. Epidemiologia. Fitopatometria. *Zea mays* L.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A DIAGRAMMATIC SCALE FOR QUANTIFICATION OF *Diplodia macrospora* LEAF SPOT IN CORN

Abstract - The aim of this study was to develop and validate a diagrammatic scale to evaluate the severity of leaf spot caused by the fungus *Diplodia macrospora* in corn leaves considering the limits of minimum and maximum disease severity and intermediate levels according to the "Weber-Fechner stimulus response law". The proposed scale presented six levels of severity: 0.5%; 3%; 8%; 23%; 36% and 55% of the leaf area affected. The validation was carried out by eight evaluators, four inexperienced and four experienced, who estimated the severity of 60 leaves of corn that presented the symptoms of the disease, first without the use of the proposed diagrammatic scale and, later, with the use of the proposed scale. The regression analysis showed the relationship between the degree of real severity and the estimated values for each evaluator, with and without the use of the scale. With the use of scale, both inexperienced and experienced evaluators demonstrated greater levels of accuracy and precision.

Keywords: Disease assessment. Epidemiology. Phytopathometry. *Zea mays* L.

6.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal de grande importância que apresenta grande papel econômico e social (CONAB, 2019). De acordo com a FAO (2019), o Brasil tornou-se o segundo maior exportador mundial de milho, estimando-se para safra 2018/2019, produção superior a 95 milhões de toneladas com produtividade média esperada de 5.524 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

Existem relatos que indicam que o potencial de produtividade do milho é 19.113 kg ha⁻¹ (OLIVEIRA et al., 2013), o que demonstra que a produtividade média atual é baixa e, portanto, devem-se estudar os fatores que afetam a produtividade da cultura.

Dentre os vários fatores que podem contribuir na redução da produtividade das culturas, está a ocorrência de doenças (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2018).

Plantios antecipados irrigados, plantios na safra de verão e o aumento da área cultivada do segundo plantio (safrinha), proporcionam uma continuidade temporal à cultura de milho, o que aumenta a possibilidade de surgimento de novos problemas relacionados a doenças (CARVALHO et al., 2016). Além disso, os restos culturais deixados sobre o solo e a ausência de rotação de culturas favorecem a sobrevivência de vários fitopatógenos, fazendo com que as doenças ressurgam com intensidade superior (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2018).

Dentre as doenças que ocorrem na cultura do milho, tem-se a mancha foliar de diplodia macrospora, causada pelo fungo *Diplodia macrospora* Earle Sutton [Sin. *Stenocarpella macrospora* (Earle)], que incide frequentemente nas lavouras e tem apresentado elevada importância nos últimos anos (CARVALHO et al., 2016).

As lesões de *D. macrospora* são necróticas com formato elíptico ou estriado, apresentando as margens cloróticas e o centro necrosado, no qual é possível observar o ponto inicial de infecção onde se inicia a formação de picnídios negros e globosos, os quais contém os conídios (CARVALHO et al., 2016), sendo que estas lesões causam a diminuição da área fotossintetizante. Este mesmo patógeno pode causar podridão do colmo, podridão de espiga e grãos ardidos (SIQUEIRA et al., 2014), o que prejudica a produtividade e a sanidade do grão (BAMPI et al., 2012).

Umidade relativa superior a 50% (LATTERELL; ROSSI, 1983) e temperaturas variando de 25 a 32 °C (EDDINS, 1930) são condições ideais para que os conídios germinem na folha,

sendo este processo iniciado entre 12 e 15 h após serem depositados na planta hospedeira, levando em consideração temperatura de 28 °C (BRUNELLI et al., 2005).

Tão importante quando conhecer a etiologia e os sintomas da doença é quantificar a intensidade da mesma, sendo fundamental a utilização de escalas diagramáticas para determinar a severidade (ALVES et al., 2015).

No caso da mancha foliar de diplodia, ainda não existe uma escala diagramática disponível e as avaliações de severidade são realizadas a partir de estimativas da área foliar infectada. Assim, a escala poderia diminuir erros e proporcionar maior precisão nos resultados por conter imagens da parte da planta que representam os sintomas da doença em diversos níveis de severidade, melhorando a acurácia e a precisão das avaliações (AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2018), além de ser de uso fácil, rápido e preciso.

Alguns aspectos devem ser levados em consideração durante a preparação de uma escala diagramática como, por exemplo, as quantidades mínima e máxima de doença observadas no campo; os níveis intermediários de doença, os quais devem respeitar a lei do estímulo resposta (Weber-Fechner); e representações dos sintomas próximos da realidade (AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2018).

Levando tais fatores em consideração, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar uma escala diagramática para quantificação da severidade de mancha foliar causada por *D. macrospora* em milho.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

A escala diagramática para avaliação de mancha foliar de *D. macrospora* em milho foi elaborada a partir de 60 folhas coletadas em lavoura comercial em Toledo, região oeste do estado do Paraná, durante janeiro de 2017, sendo que tais folhas apresentavam grande heterogeneidade de severidade da doença.

As folhas foram coletadas no momento que a cultura apresentava grão farináceo (estádio fenológico R4), com variados níveis de severidade, sendo as plantas infectadas naturalmente. O terço médio de cada folha coletada foi fotografado com câmera digital e analisado no software Quant-v1.0.0.22 (VALE et al., 2001), onde se calculou a severidade real da doença (porcentagem de área foliar lesionada) na superfície de cada folha e a área foliar total de cada folha.

Para a confecção da escala diagramática determinou-se o limite mínimo, ou seja, menor quantidade de doença observada, e o limite máximo, quantidade de doença em que observou-

se a folha seca. Os níveis intermediários de severidade foram selecionados seguindo a lei de Weber-Fechner de acuidade visual. Diante dos valores obtidos e respeitando a forma, distribuição e frequência das lesões, confeccionou-se uma escala diagramática com seis níveis crescente de severidade: 0,5%; 3%; 8%; 23%; 36% e 55,0% da área foliar afetada (Figura 1). Foi considerado como área doente a parte necrosada da folha e o halo amarelado presente nas lesões.

Para a validação da escala preparou-se uma apresentação eletrônica com as 60 fotografias das folhas de milho com diversos níveis de severidade da doença, sendo estas dispostas de forma aleatória. A apresentação foi avaliada por oito avaliadores, sendo quatro considerados inexperientes, ou seja, sem experiência na quantificação de doenças (avaliadores 1, 2, 3 e 4) e quatro considerados experientes, pois já utilizaram algum tipo de escala diagramática para avaliação de severidade de doenças em plantas (avaliadores 5, 6, 7 e 8). A avaliação foi realizada duas vezes por cada avaliador, sendo a primeira sem a utilização da escala e a segunda utilizando a escala diagramática proposta.

A acurácia e a precisão dos avaliadores foram determinadas por regressão linear levando em conta a inclinação da reta de regressão igual a uma constante, onde a severidade real foi considerada como variável independente e a severidade estimada considerada como variável dependente, sendo possível determinar a relação entre severidade real e severidade estimada com e sem o uso da escala.

A acurácia das estimativas dadas pelos avaliadores foi determinada pelo teste t aplicado no coeficiente “a” (coeficiente angular) da equação da reta para verificar se foi significativamente diferente de 1, e o coeficiente “b” (coeficiente linear / intercepto de regressão linear) para testar se foi significativamente diferente de 0, ao nível de 5% de probabilidade. Valores de intercepto “b” significativamente diferentes de 0 apontam a presença de desvios constantes e, valores de coeficiente angular da reta “a” significativamente diferentes de 1 demonstram existência de desvios sistemáticos (ALVES et al., 2015). Assim, quando se verificou que “a” e “b” se desviaram de 1 e zero, respectivamente, isso indicou ocorrência de desvios constantes e sistemáticos na avaliação (LENZ et al., 2010).

A precisão dos avaliadores foi estimada pelo coeficiente de determinação / correlação (R^2) utilizando a mesma regressão linear e a variância dos erros absolutos, os quais foram obtidos subtraindo a severidade real da severidade estimada por cada avaliador (NUTTER et al., 1995).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores máximo e mínimo dos limites da escala diagramática proposta neste estudo com seis níveis de severidade foram de 0,5% e 55% de área foliar com lesões, conforme Figura 1. Esta escala foi confeccionada de acordo com a lei Weber-Fechner de acuidade visual, considerando-se inclusive áreas amareladas presentes ao redor das áreas já necrosadas pelo patógeno.

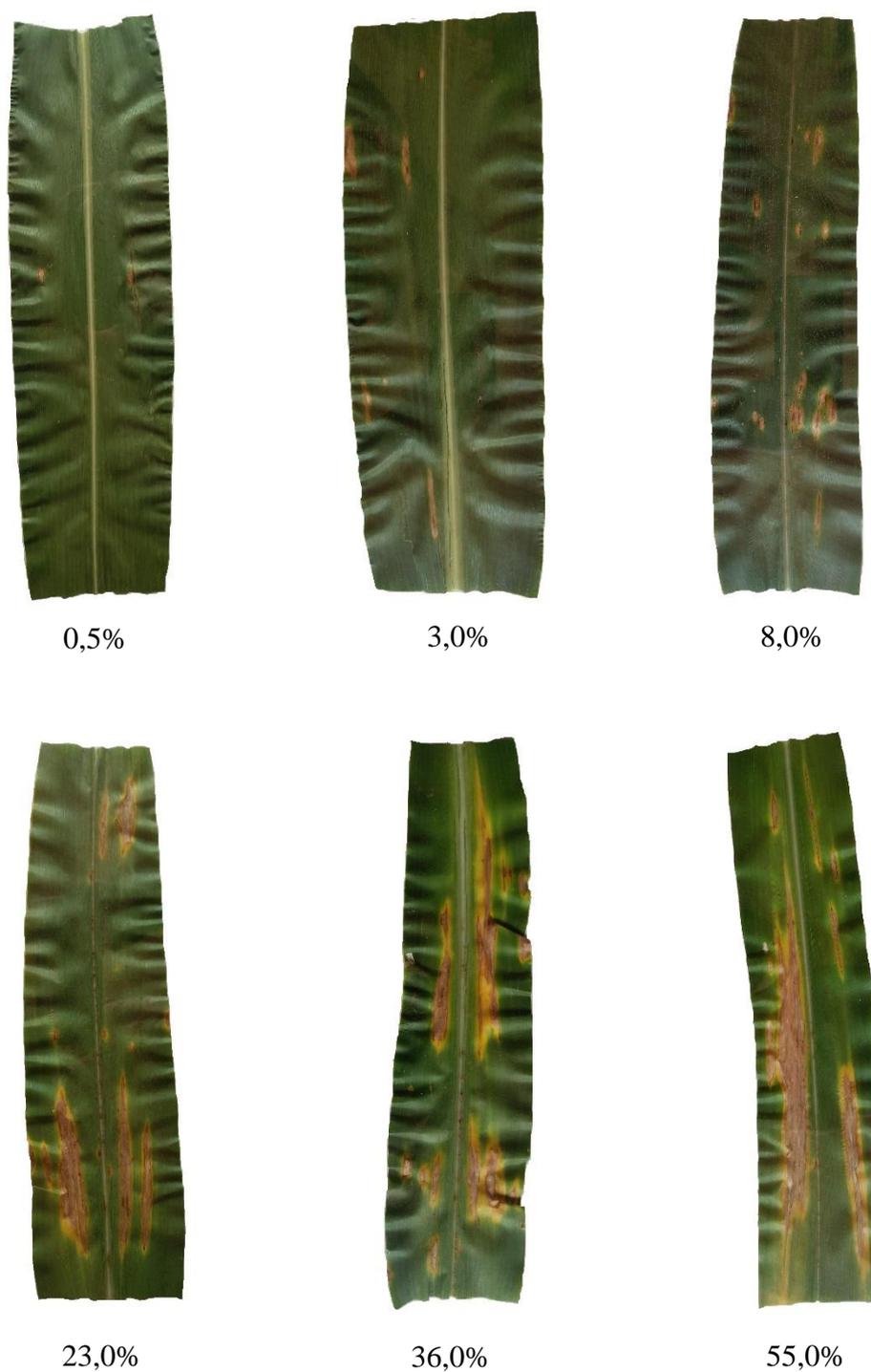


Figura 1. Escala diagramática para avaliação de severidade da mancha foliar causada por *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*) em milho (*Zea mays* L.). Valores em percentual de área foliar com sintomas

A validação de uma escala é realizada para aferir se a mesma está apta a ser utilizada em condições de campo nas mensurações de severidade por pesquisadores e produtores.

Para avaliar a precisão (repetibilidade ou variação na estimativa) e a acurácia (exatidão ou proximidade entre o valor estimado e o valor real) dos avaliadores, fez-se a regressão linear entre os dados estimados e os dados reais.

A acurácia representada pelo grau de proximidade entre os valores estimados (b) e reais (a) foram mais próximos de 0 e 1, respectivamente, nos avaliadores experientes e com a utilização da escala diagramática proposta (Tabela 1).

Comparando-se os dados das análises de regressão dos avaliadores, sem e com o auxílio da escala diagramática, verificou-se que a escala foi efetiva para elevar a acurácia e precisão nas avaliações da doença (Tabela 1).

Tabela 1. Coeficiente angular (a), coeficiente linear (b), e coeficiente de determinação (R^2) da regressão linear entre a severidade real (variável independente) e a severidade estimada (variável dependente) da mancha foliar de *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*) em milho (*Zea mays* L.), por oito avaliadores (1 ao 4 inexperientes e 5 ao 8 experientes) com e sem a utilização da escala diagramática proposta.

Avaliador	Sem escala			Com escala		
	a	b	R^2	a	b	R^2
Inexperiente						
1	1,2165*	3,3036 ^{ns}	0,6851	1,0615 ^{ns}	2,1217 ^{ns}	0,9090
2	0,7583*	1,5919 ^{ns}	0,6259	0,9221 ^{ns}	0,8810 ^{ns}	0,8985
3	0,9251 ^{ns}	1,7600 ^{ns}	0,5499	0,9181 ^{ns}	1,0423 ^{ns}	0,8885
4	0,6104*	0,8842 ^{ns}	0,7492	0,3595*	1,1102 ^{ns}	0,8943
Experiente						
5	0,8991 ^{ns}	1,8305 ^{ns}	0,7874	0,9450 ^{ns}	1,0790 ^{ns}	0,9379
6	0,6014*	1,3084 ^{ns}	0,5696	0,9357 ^{ns}	0,4834 ^{ns}	0,9290
7	0,8650*	1,5486 ^{ns}	0,7828	0,9371 ^{ns}	0,9773 ^{ns}	0,9088
8	0,7262*	2,6881*	0,7721	0,9393 ^{ns}	1,3700 ^{ns}	0,9028

* Situação em que a hipótese de nulidade ($a=1$ ou $b=0$) é rejeitada pelo teste t, $p<0,05$.

Na validação da escala diagramática, para os valores do intercepto da regressão linear (b) sem a utilização da escala, entre os avaliadores inexperientes, não houve nenhum indicativo de presença de desvios constantes, ou seja, mesmo não sendo experientes e não tendo a escala diagramática como base, os avaliadores conseguiram realizar uma avaliação adequada, não havendo significância estatística ($P\leq 0,05$) (Figura 2). Da mesma forma, quando estes

avaliadores inexperientes utilizaram a escala, conseguiram manter essa adequação, não havendo significância ($P \leq 0,05$) (Figura 3).

Em relação aos valores do coeficiente angular da reta (a), os avaliadores 1, 2 e 4 entre os inexperientes, diferiram significativamente de 1 ($P \leq 0,05$) indicando a presença de desvios sistemáticos, sendo estes melhorados com a utilização da escala pelos avaliadores 1 e 2 que se tornaram iguais a 1 ($P \leq 0,05$). Entre os avaliadores experientes, os avaliadores 6, 7 e 8 mostraram valores de (a) diferentes de 1 sem a utilização da escala diagramática. Tais erros foram corrigidos quando estes utilizaram a escala diagramática proposta, já que todos passaram a ter valores de (a) estatisticamente iguais a 1.

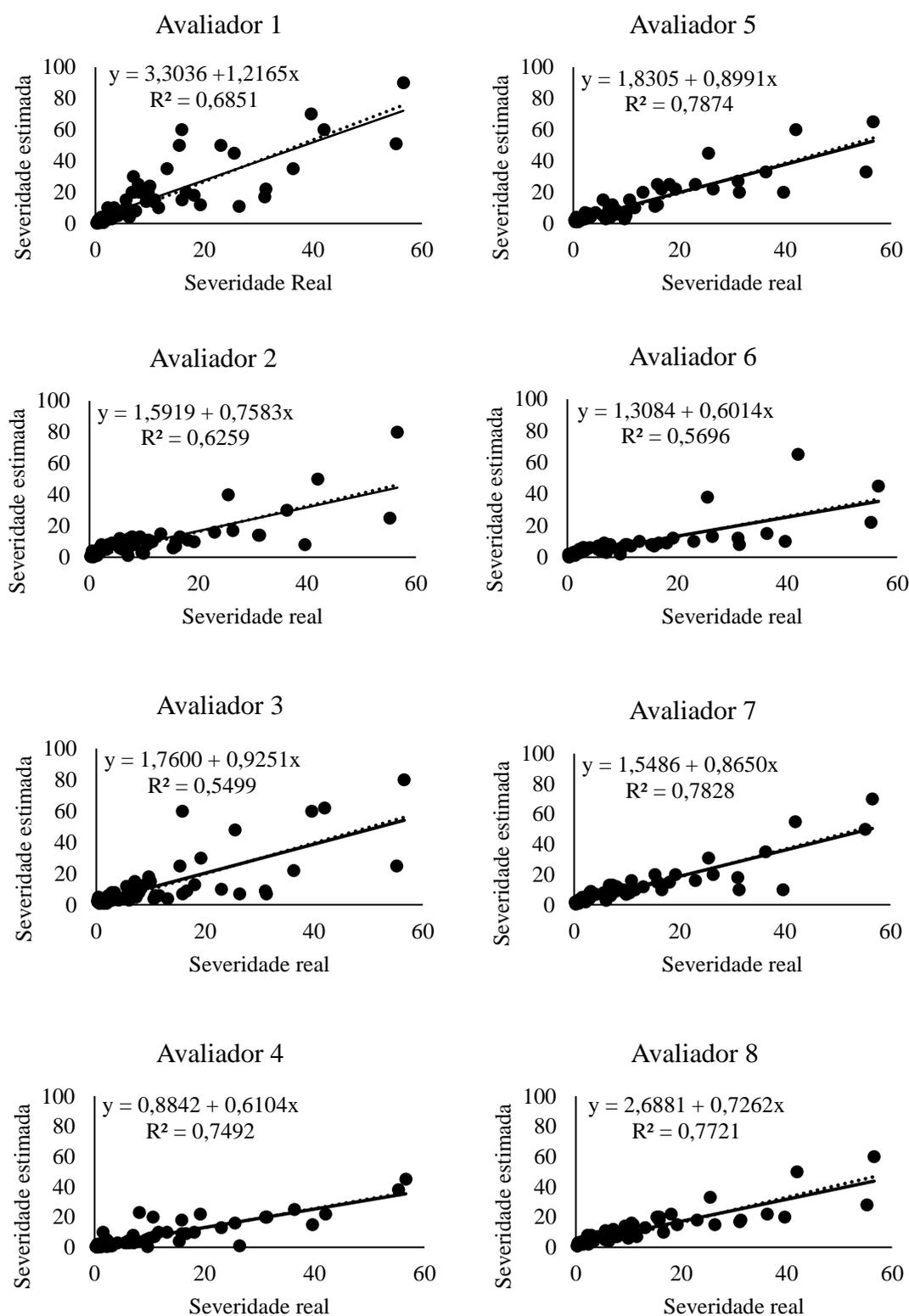


Figura 2. Severidade estimada sem o auxílio da escala diagramática elaborada (•) e regressão linear obtida entre a severidade real e a estimada (—) avaliando a mancha foliar de *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*) na cultura do milho (*Zea mays* L.). A linha pontilhada (··) representa a situação ideal, com estimativas de severidade idênticas à real. Avaliadores 1 a 4 são inexperientes e avaliadores 5 a 8 são experientes.

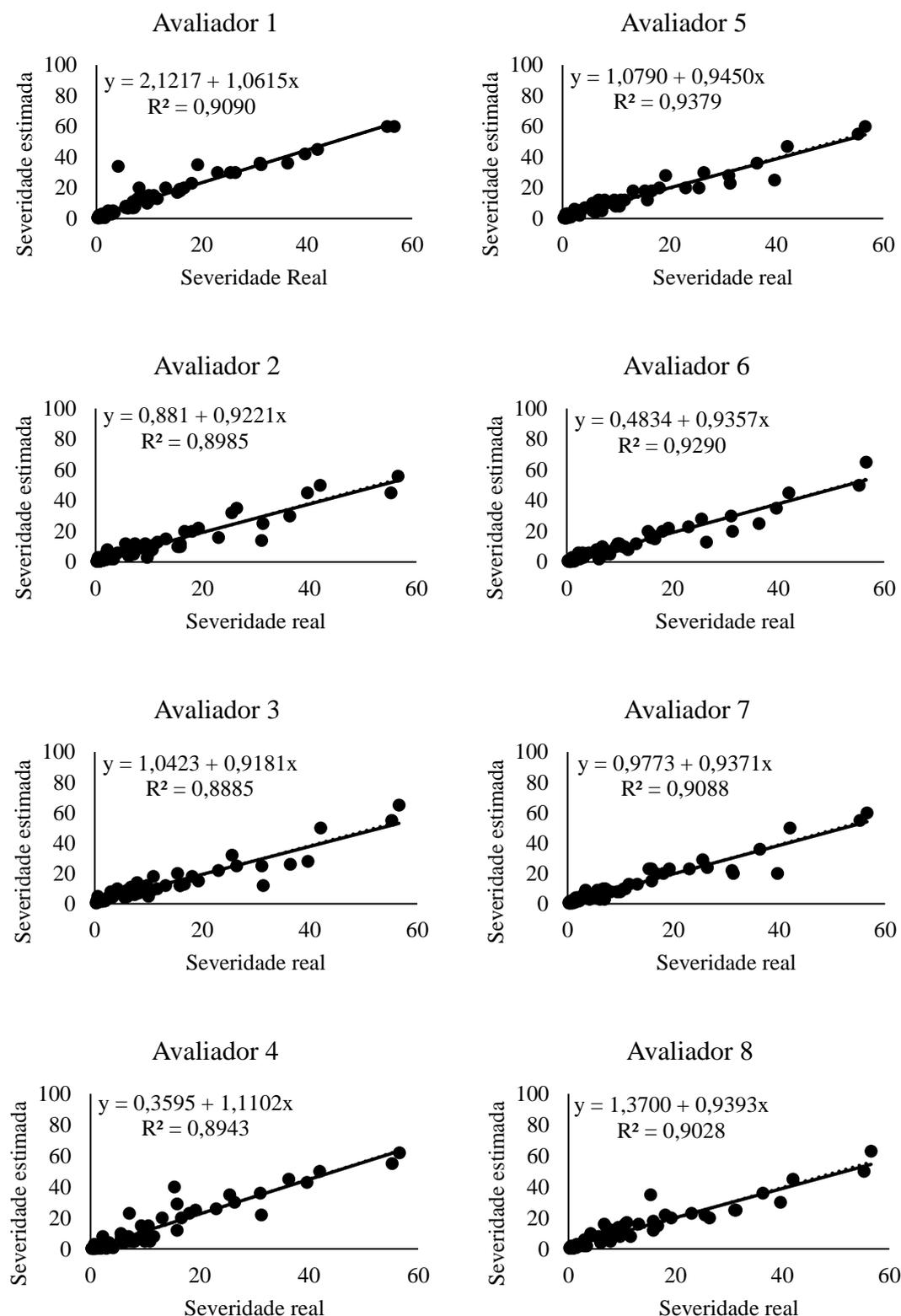


Figura 3. Severidade estimada com o auxílio da escala diagramática elaborada (•) e linhas de regressão obtidas entre a severidade real e a estimada (—) avaliando a mancha foliar de *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*) na cultura do milho (*Zea mays* L.). A linha pontilhada (··) representa a situação ideal, com estimativas idênticas á real. Avaliadores 1 ao 4 são inexperientes e avaliadores 5 ao 8 são experientes.

Quando não utilizada a escala diagramática, três avaliadores experientes (avaliadores 5, 6 e 7) realizaram avaliações com valores de (b) iguais a zero, ou seja, não demonstraram presença de desvios (Figura 2). Apenas o avaliador 8 mostrou-se diferente estatisticamente de zero, ou seja, este avaliador apresentou erros significativos, contudo, com a utilização da escala proposta este erro foi corrigido, sendo estatisticamente igual a zero, e os demais avaliadores continuaram realizando avaliações adequadas, pois mantiveram-se com valores de (b) iguais a zero (Figura 3).

Portanto, o uso da escala diagramática proposta permitiu eliminar os desvios constantes e reduzir os desvios sistemáticos das estimativas dos avaliadores.

A precisão, que se refere a repetibilidade ou variação associada a uma estimativa, independentemente do valor médio, estimada pelo coeficiente de determinação (R^2) e pela variância dos erros absolutos (NUTTER JUNIOR; SCHULTZ, 1995) foi maior com o uso da escala diagramática, tanto para os avaliadores inexperientes quanto para os experientes.

A análise da precisão das estimativas visuais da severidade sem a utilização da escala diagramática realizada pelos avaliadores sem experiência foi de em média 0,6525 (Figura 2), sendo este valor melhorado em 36% quando utilizada a escala diagramática, onde a média foi de 0,8975 (Figura 3). Já as estimativas da severidade, sem a utilização da escala, realizada pelos avaliadores com experiência, justificou 0,7279% da variação (R^2) (Figura 2). Com o auxílio da escala, os avaliadores com experiência melhoraram sua precisão, com coeficientes de determinação em média de 0,9196 e melhora de 26% (Figura 3).

Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos realizados por diversos autores (ALVES et al., 2015; CAPUCHO et al., 2011; CUSTÓDIO et al., 2011; DOMICIANO et al., 2013; DUARTE et al., 2013; JULIATTI et al., 2013; LENZ et al., 2010; LIMA et al., 2013; NUNES; ALVES, 2012; REIS et al., 2013; SOUSA et al., 2014; TERAMOTO et al., 2011 e TROJAN e PRIA, 2018) com o aumento na precisão das avaliações utilizando a escala diagramática, o que demonstra a importância desta ferramenta na quantificação de doenças.

Sem o auxílio da escala diagramática, a variação média dos erros absolutos foi de -26,70 a 23,82 (Figura 4) sendo que com a utilização da escala a variação média foi de -13,00 a 14,10 (Figura 5), ou seja, houve diminuição de aproximadamente 46% da variação da média dos erros absolutos. Estes resultados demonstram que a superestimação ou a subestimação da severidade podem ser diminuídos com o uso escala diagramática proposta.

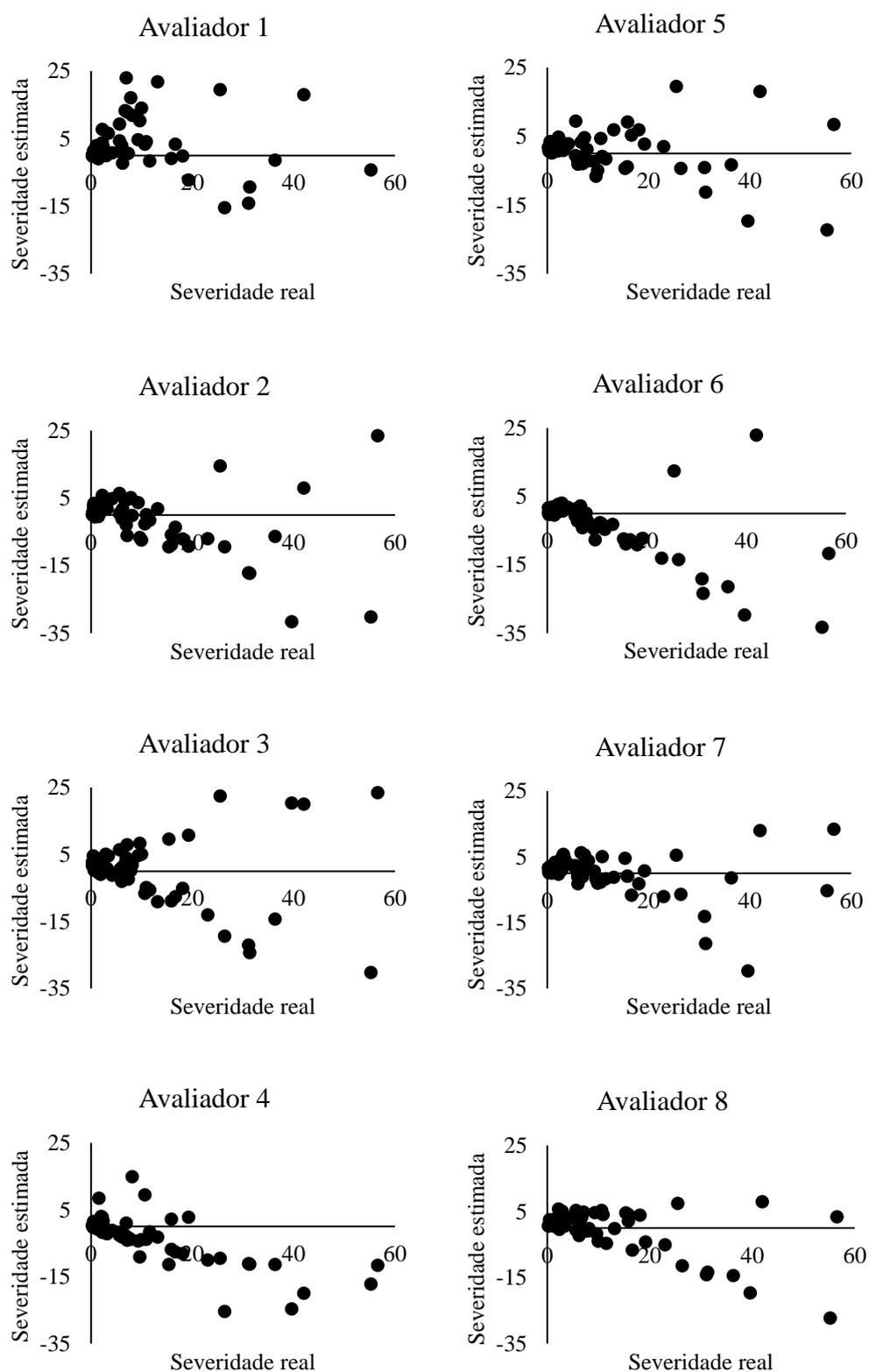


Figura 4. Erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) para oito avaliadores analisando a mancha foliar de *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*) na cultura do milho (*Zea mays* L.) sem utilizar a escala diagramática proposta. Avaliadores 1 a 4 são inexperientes e avaliadores 5 a 8 são experientes.

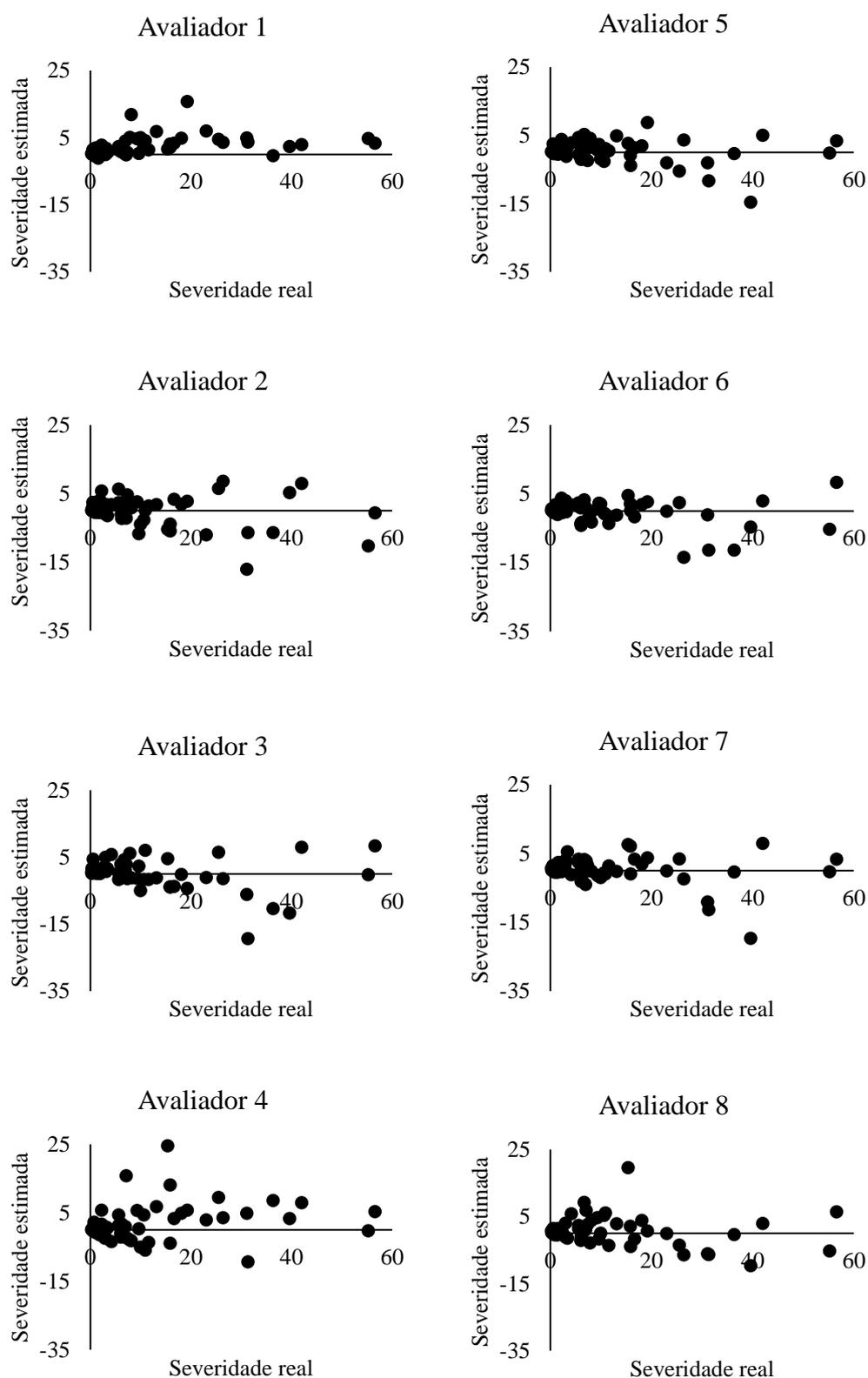


Figura 5. Erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) para oito avaliadores analisando a mancha foliar de *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*) na cultura do milho (*Zea mays* L.) utilizando a escala diagramática proposta. Avaliadores 1 ao 4 são inexperientes e avaliadores 5 ao 8 são experientes.

6.4 CONCLUSÃO

Foi possível desenvolver e validar uma escala diagramática assertiva para avaliação da severidade de mancha foliar causada por *D. macrospora* em milho, visto que sua adoção proporcionou níveis adequados de acurácia e precisão das estimativas, além de rapidez e facilidade de avaliação, sendo assim, considerada uma ferramenta útil e recomendada nas pesquisas relacionadas a esta doença.

6.5 REFERÊNCIAS

ALVES, G.C.S.; SANTOS, L.C.; DUARTE, H.S.S.; DIAS, V.; ZAMBOLIM, L.; ROCHA, M.R. Escala diagramática para quantificação da ferrugem da folha do trigo. **Multi-Science Journal**, Urataí, v.1, n.1, p.128-133, 2015.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios de conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 499-518.

BAMPI, D.; CASA, R.T.; BOGO, A.; SANGOI, L.; SACHS, C.; BOLZAN, J.M.; PILETTI, G. Desempenho de fungicidas no controle da mancha-de-macrospora na cultura do milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.38, n.4, p.319-322, 2012.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Princípios gerais de controle. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios de conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 215-228.

BRUNELLI, K.R.; SOBRINHO, C.A.; CAVALCANTI, L.S.; FERREIRA, P.T.O.; CAMARGO, L.E.A. Germinação e penetração de *Stenocarpella macrospora* em folhas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.187-190, 2005.

CAPUCHO, A.S.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H.S.S.; VAZ, G.R.O. Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Plant Pathology**, London, v.60, p.1144-1150, 2011.

CARVALHO, R.V.; PEREIRA, O.A.P.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v. 2, 2016. p. 549-560.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos. **Monitoramento agrícola – Safra 2019/20**, v.7. Safra 2019/20, n.3. Terceiro Levantamento, 2019.

CUSTÓDIO, A.A.P.; POZZA, E.A.; GUIMARÃES, S.S.G.; KOSHIKUMO, É.S.M.; HOYOS, J.M.A.; SOUZA, P. E. Comparison and validation of diagrammatic scales for brown eye spots in coffee tree leaves. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1067-1076, 2011.

DOMICIANO, G.P.; DUARTE, H.S.S.; MOREIRA, E.N.; RODRIGUES, F.A. Development and a validation of a set of standard area diagrams to aid in estimation of spot blotch severity on wheat leaves. **Plant Pathology**, London, v.63, n.4, p.922-928, 2013.

DUARTE, H.S.S.; ZAMBOLIM, L.; CAPUCHO, A.S.; NOGUEIRA JUNIOR, A.F.; ROSARDO, A.W.C.; CARDOSO, C.R.; PAUL, P.A.; MIZUBUTI, S.G. Development and validation of a set of standard area diagrams to estimate severity of potato early blight. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v.137, p.249-257, 2013.

EDDINS, A.H. Dry rot of corn caused by *Diplodia macrospora* Earle. **Phytopathology**, Sant Paul, v.20, n.3, p.439-448, 1930.

FAO. Food and Agriculture Organization. Production: crops. 2017. Disponível em: . Acesso em: 29 dez. 2017.

JULIATTI, F.C.; CRATO, F.F.; JULIATTI, F.C.; COUTO, K.R.; JULIATTI, B.C.M. Escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v.29, n.3, p.676-680, 2013.

LATTERELL, F.M.; ROSSI, A. E. *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*) and *S. maydis* (= *D. maydis*) compared as pathogens of corn. **Plant Disease**, Sant Paul, v.67, n.7, p.725-729, 1983.

LENZ, G.; BALARDIN, R.S.; CORTE, G.D.; MARQUES, L.N.; DEBONA, D. Escala diagramática para avaliação de severidade de mancha-parda em arroz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.4, p.752-758, 2010.

LIMA, H.E.; NECHET, K.L. VIEIRA, B.A.H. OLIVEIRA, J.R.; DUARTE, H.S.S.; QUEIROZ, E. S.; OLIVEIRA, F. L. Elaboração e validação de escalas diagramáticas para avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão - caupi em cultivares com trifólios morfológicamente distintos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.10, p.1735-1743, 2013.

OLIVEIRA, P.; NASCENTE, A.S.; KLUTHCOUSKI, J.; PORTES, T.A. Crescimento e produtividade de milho em função da cultura antecessora. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.43, n.3, p.239-246, 2013.

NUNES, C.C.; ALVES, S.A.M. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da severidade de entomosporiose em folhas de pereira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.38, n.3, p.239-244, 2012.

NUTTER JUNIOR, F.W.; SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.17, p.174-184, 1995.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; BRESOLIN, A.C.R. Development and validation of a standard area diagram set to assess blast severity on wheat leaves. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v.136, p.603-611, 2013.

SIQUEIRA, C.S.; MACHADO, J.C.; BARROCAS, E.N.; ALMEIDA, M.F. Potential for transmission of *Stenocarpella macrospora* from inoculated seeds to maize plants grown under controlled conditions. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.36, n.2, p.154-161, 2014.

SOUSA, S.C.R.; SANTOS, G.R.; RODRIGUES, A.C.; BONIFÁCIO, A.; DALCIN, M.S.; JULIATTI, F.C. Escala diagramática para avaliação da severidade do crestamento gomoso do caule em melancia. **Bioscience Journal**, v.30, n.5, p.1314-1324, 2014.

TERAMOTO, A.; AGUIAR, R.A.; GARCIA, R.A.; MARTINS, M.C.; CUNHA, M.G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo em folhas de pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.41, n.3, p.439-445, 2011.

TROJAN, D.G.; PRIA, M.D. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose da folha do milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.44, n.1, p.56-64, 2018.

VALE, F.X.R, FERNANDES FILHO, E.I.F., LIBERATO, J.R. QUANT: a software to quantify plant disease severity. Proceeding do **8th International Workshop on Plant Disease Epidemiology**. Ouro Preto, v.1, 2001. 160 p.

7 CAPÍTULO 6: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA MANCHA BACTERIANA DA FOLHA EM MILHO CAUSADA POR *Pseudomonas avenae*

Resumo - A mancha bacteriana da folha ocorre em praticamente todo o território brasileiro e pode causar perdas econômicas sendo necessárias ferramentas que auxiliem na sua quantificação. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar a escala diagramática para quantificação da severidade da mancha bacteriana da folha em milho causada por *Pseudomonas avenae*. Foram coletadas 43 folhas de milho apresentando diferentes níveis de severidade da doença, e mediu-se a área foliar total e a área lesionada do terço médio de cada uma das folhas, determinando-se os limites mínimo e máximo da doença, e, posteriormente, os quatro níveis intermediários levando em consideração a lei do estímulo visual de Weber-Fechener. Foram selecionados os níveis 1,5%, 2,5%, 9%, 18%, 46% e 70%, sendo a validação realizada por oito avaliadores, quatro inexperientes e quatro experientes, que estimaram os valores de severidade inicialmente sem a utilização da escala diagramática proposta, e num segundo momento com a utilização da escala. Conclui-se que foi possível melhorar a acurácia e a precisão dos avaliadores quando estes utilizaram a escala como ferramenta para avaliação de severidade para mancha bacteriana da folha do milho.

Palavras-chave: Doença. Patometria. *Zea mays* L.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF DIAGRAMMATIC SCALE FOR QUANTIFICATION OF BACTERIAL LEAF SPOT IN CORN CAUSED BY *Pseudomonas avenae*

Abstract - The bacterial leaf spot occurs worldwide and may fluctuate when the tools were aided in its quantification. The aim of this work was to develop and validate a diagrammatic scale for the quantification of the bacterial leaf spot severity in corn by *Pseudomonas avenae*. A total of 43 leaves were mapped from the different severity levels of the disease, and the total leaf area and the injured area of the middle third of each leaf were measured, determining the minimum and maximum limits of the disease, by Weber-Fechener's visual. The levels were found to be 1,5%, 2,5%, 9%, 18%, 46% and 70%, being a validation performed by four evaluators, four inexperienced and four experienced, who estimate the severity values initially without a use of the proposed diagrammatic scale, and in a second moment with the use of the

scale. The evaluation of the use of the scale in the evaluation of severability for bacterial labeling.

Keywords: Disease. Pathometry. *Zea mays* L.

7.1 INTRODUÇÃO

Estima-se que na safra 2017/2018 seja semeado milho em uma área superior a 17 milhões de hectares (CONAB, 2018). Com o incremento da produção do milho devido a maior área cultivada e ampla época de cultivo houve também o aumento da ocorrência de doenças (CARVALHO et al., 2016), o que podem provocar diminuição da produtividade e afetar a qualidade dos grãos e da forragem (LANZA et al., 2016).

Dentre as principais doenças do milho tem-se cercosporiose, mancha-branca, mancha foliar de *Exserohilum*, ferrugens, antracnose e fusarioses, porém, com as mudanças climáticas e a utilização de programas de melhoramento para obtenção de híbridos precoces e mais produtivos, a ocorrência de epidemias foi favorecida (CARVALHO et al., 2016). Dessa forma, doenças secundárias ou não tão frequentes podem, em condições climáticas adequadas e dependendo do genótipo do hospedeiro, se desenvolverem e causarem grandes prejuízos, como é o caso da mancha bacteriana.

A mancha bacteriana da folha é causada pela bactéria *Pseudomonas avenae* e tem ocorrência esporádica, mas bem distribuída em todo o Brasil. O desenvolvimento da doença ocorre em períodos chuvosos ou em áreas de grande irrigação e é favorecida por elevadas temperaturas (CARVALHO et al, 2016).

As lesões podem aparecer nas folhas do milho como pequenos pontos até longas estrias paralelas as nervuras, inicialmente aparecem com cor verde-clara e aspecto de encharcamento, evoluindo para áreas necrosadas que ao coalescerem, podem atingir grande área rasgando facilmente a folha. Esta bactéria pode provocar podridão em internódios próximos a espiga ou levar a morte da planta (WHITE, 1999).

O causador dessa doença ainda não está bem esclarecido na literatura (CARVALHO et al., 2016) sendo relatado por Willems et al. (1992) como *Pseudomonas avenae* Manns (sin. *P. alboprecipitans* Rosen e *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*). O que se sabe é que se trata de uma bactéria gram-negativa, baciliforme, com flagelo bipolar (CARVALHO et al., 2016), favorecida em clima quente e úmido com temperatura ideal de desenvolvimento entre 30 e 35 °C, não sobrevivendo bem no solo e em restos culturais, sendo a utilização de híbridos

resistentes ou tolerante a melhor forma de controle. Este patógeno causa doença em outras culturas como por exemplo centeio, trigo de cevada, aveia e sorgo (WHITE, 1999).

Além da etiologia e dos sintomas apresentados pela doença, é importante determinar a intensidade dos sintomas (ALVES; NUNES, 2012). Para quantificar de forma precisa a severidade da doença é necessária a utilização de escalas diagramáticas desenvolvidas a partir de folhas que apresentam os sintomas e sinais da doença em estudo (AMORIM; BERGAMIN FILHO 2018), níveis de severidade que possam ser reproduzidos a campo, padrão de evolução da doença, além de permitir avaliações imediatas (BERGER, 1980).

Para confecção de uma escala diagramática é preciso priorizar os limites superior e inferior da escala, que devem corresponder às máxima e mínima quantidades de sintomas encontrados a campo, e incluir os níveis intermediários da severidade da doença levando em consideração os limites de acuidade visual do ser humano, definidos pela lei de estímulo visual de Weber-Fechner (NUTTER JUNIOR; SCHULTZ, 1995).

Antes de uma escala ser proposta é importante que seja realizada sua validação para verificar se o resultado obtido com ela é satisfatório ou não. Para validação, os avaliadores precisam estimar com acurácia e precisão a área lesionada, o que é trabalhoso e muitas vezes demanda treinamento prévio dos mesmos (ALVES; NUNES, 2012).

Ainda não existe escala diagramática para a mancha bacteriana da folha, portanto, busca-se através deste estudo desenvolver e validar uma escala para quantificação da severidade de mancha bacteriana da folha causada por *Pseudomonas avenae* em milho.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração da escala foram coletadas 43 folhas do milho híbrido SX 7331 VIPTERA com sintomas da mancha bacteriana, resultantes de infecção natural, e apresentando diferentes níveis de severidade da doença. O terço médio de cada folha coletada foi fotografado utilizando câmera digital e as imagens foram analisadas com o software Quant-v1.0.0.22 (VALE et al., 2001), onde foi possível calcular a severidade real da doença e a área da folha.

A escala diagramática foi determinada através do limite mínimo representado pela menor quantidade de doença observada a campo, e o limite máximo caracterizado pela maior quantidade de doença encontrada. Os níveis intermediários de severidade que fizeram parte da escala diagramática foram selecionados levando em consideração a lei de Weber-Fechner de acuidade visual (HORSFALL; BARRAT, 1945). Respeitando a forma, distribuição e frequência das lesões, confeccionou-se uma escala diagramática com seis níveis de severidade.

Para que tal escala fosse validada, confeccionou-se uma apresentação utilizando o programa Power Point (Microsoft Office 2016) com 43 fotografias de folhas em diferentes níveis de severidade da doença. Tais fotografias passaram pela avaliação de oito pessoas sendo quatro consideradas sem experiência na quantificação de severidade de doenças (avaliadores 1, 2, 3 e 4) e quatro pessoas que já utilizaram algum tipo de escala diagramática para avaliação de severidade, considerados experientes (avaliadores 5, 6, 7 e 8). Cada pessoa realizou a avaliação duas vezes, inicialmente sem a utilização da escala proposta e, posteriormente, com o auxílio da mesma, a fim de verificar se esta auxiliou ou não na melhora das estimativas.

Gráficos apresentando os dados obtidos foram confeccionados para determinar a acurácia e a precisão dos resultados, além de relacionar estes valores com os valores reais. Definiu-se a variável independente X como a severidade real e a variável dependente Y como a severidade estimada por cada avaliador. Foi utilizado o método da análise de regressão linear (CHARNET et al., 1999) levando em consideração a inclinação da reta de regressão igual a uma constante.

Determinou-se a acurácia dos avaliadores por meio dos valores dos coeficientes angular e linear da regressão linear, sendo o primeiro representado pelo ‘a’ da equação, o qual acompanha ‘x’ e corresponde a inclinação da reta que quanto mais próximo de 1 maior a acurácia, enquanto o segundo corresponde ao ‘b’ da equação que quanto mais próximo de zero maior a acurácia e corresponde ao intercepto da regressão linear.

A precisão dos avaliadores foi registrada pelos valores do coeficiente de determinação ou correlação (R^2) que quanto mais próximo de 1 mais preciso, sendo obtido a partir da mesma equação linear onde se obteve os valores dos coeficientes angular e linear (NUTTER JUNIOR; SCHULTS, 1995). Os erros absolutos foram obtidos através da subtração da severidade estimada da severidade real (NUTTER JUNIOR; SCHULTS, 1995), para cada avaliador, tanto sem quanto com a utilização da escala proposta.

Para análise estatística dos dados realizou-se regressão simples e teste *t* a 5% de probabilidade de erro. Valores de ‘a’ (coeficiente angular) diferentes de 1 indicam a ocorrência de desvios sistemáticos e valores de ‘b’ (coeficiente linear) diferentes de zero indicam presença de desvios constantes (ALVES et al., 2015). Utilizou-se o software livre Genes (CRUZ, 2013).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escala diagramática elaborada apresentou seis níveis de severidade e teve como limites inferior e superior os valores de 1,5% e 70% de área lesionada, respectivamente, sendo os níveis intermediários, ajustados para 2,5%, 9%, 18%, e 46% de severidade de acordo com a Figura 1. Valores de severidade acima de 70% não foram incluídos na escala, pois estes não foram observados a campo.

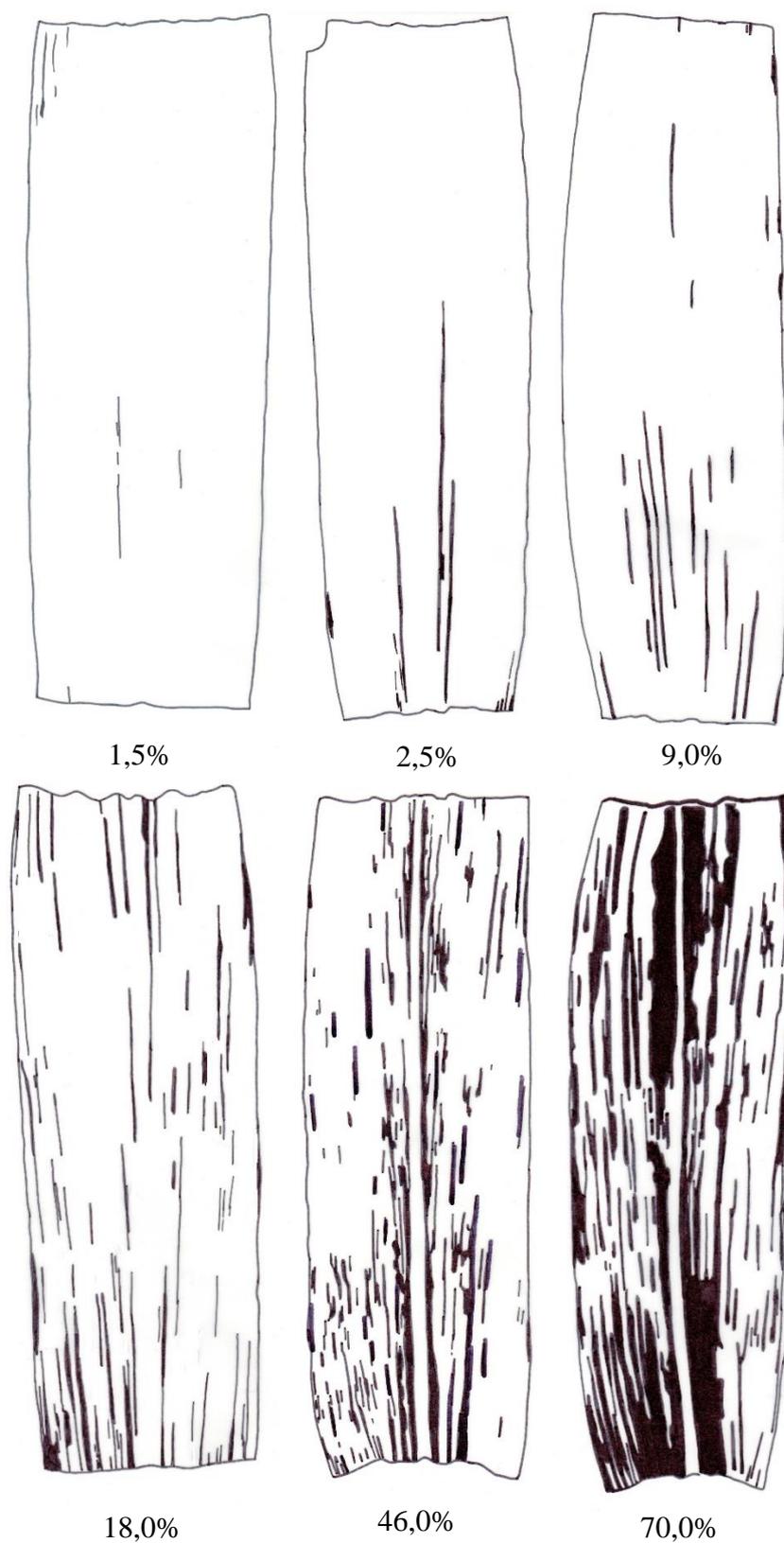


Figura 1. Escala diagramática para avaliação de severidade da mancha bacteriana da folha em milho (*Zea mays*) causada por *Pseudomonas avenae*. Valores em percentual de área foliar com sintomas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* Marechal Cândido Rondon, 2018.

Para validação da escala buscando verificar sua utilidade nas mensurações de severidade a campo, observou-se os valores das equações lineares para cada avaliador sem e com a utilização da escala, sendo testada com quatro avaliadores inexperientes e quatro experientes.

Pode-se notar que, de modo geral, tanto a acurácia quanto a precisão foram aumentadas com a utilização da escala diagramática, visto que os valores médios do coeficiente angular da reta “a” apresentaram aumento de 22% entre os avaliadores inexperientes e 34% entre os avaliadores experientes, fazendo com que a média ficasse mais próxima de 1. Já para o coeficiente linear ou intercepto “b”, houve diminuição média dos valores de 32% e 68% para avaliadores inexperientes e experientes respectivamente, fazendo com que os valores ficassem mais próximos de zero.

Sabendo que estes coeficientes indicam a acurácia do avaliador, ou seja, refere-se à proximidade entre os valores da severidade estimada e os valores da severidade real, pode-se concluir que houve de forma geral aumento da acurácia dos avaliadores.

Quando os valores de “a” e “b” se desviaram de 1 e zero, respectivamente, houve indicativo da presença de desvios constantes e sistemáticos na avaliação (SUSSEL et al., 2009; LENZ et al., 2010).

Para os avaliadores inexperientes, sem a utilização da escala diagramática houve presença de erros tanto para o coeficiente angular “a” (desvios sistemáticos) quanto para o coeficiente linear “b” (desvios constantes), pois os valores foram estatisticamente diferentes de 1 e zero, respectivamente. Com a utilização da escala diagramática proposta, os avaliadores 1 e 2 tiveram acurácia melhorada, visto que para o coeficiente angular “a” os valores passaram a ser estatisticamente iguais a 1, não havendo desvios sistemáticos. Para o avaliador 4 o coeficiente linear passou a ser não significativo, indicando também, aumento da acurácia pela diminuição dos desvios constantes. Portanto, para os avaliadores inexperientes 1, 2 e 4, a acurácia foi melhorada com a utilização da escala diagramática, comparado aos valores sem a utilização da mesma (Tabela 1).

Entre os experientes, apenas os avaliadores 5 e 7 não apresentaram erros sistemáticos para o coeficiente angular “a”, sendo que os demais avaliadores tanto para o coeficiente angular quanto linear, apresentaram erros. Para o avaliador 5, com a utilização da escala diagramática proposta, o coeficiente angular permaneceu não significativo, sendo igual a 1, e o coeficiente linear que sem utilizar a escala era significativo (apresentava desvios constantes), passou a ser não significativo, ou seja, estatisticamente igual a zero com a utilização da escala. Para o avaliador 6 apenas o coeficiente linear passou a ser não significativo indicando aumento da

acurácia, e o avaliador 8 apresentou melhora da acurácia através da eliminação dos erros sistemáticos no coeficiente angular, sendo que este, com a utilização da escala proposta, passou a ser não significativo, ou seja, igual a 1. Assim, os avaliadores experientes 5, 6 e 8 apresentaram melhora da acurácia com o uso da escala (Tabela 1).

Levando em consideração os valores do coeficiente de determinação (R^2) houve incremento de 71% da precisão das estimativas de severidade pelos avaliadores inexperientes e aumento de 19% para os experientes. A precisão indica a confiabilidade das avaliações confrontando valores de severidades real e estimada (LENZ et al., 2010).

Tanto para os avaliadores experientes quanto para os inexperientes houve aumento da precisão com a utilização da escala diagramática proposta, (Tabela 1 e Figuras 2 e 3).

De acordo com Mafia et al. (2011), os valores de R^2 de até 0,70 são considerados baixos, assim, todos os avaliadores inexperientes sem utilizar a escala diagramática proposta e o avaliador experiente 6, apresentavam baixa precisão, sendo corrigida, para todos estes avaliadores, com a utilização da escala diagramática proposta.

Estes resultados corroboram com vários estudos realizados onde se verificou elevação da precisão das avaliações visuais de severidade de doenças utilizando escalas diagramáticas (ALVES et al., 2015; CAPUCHO et al., 2011; CHAGAS et al., 2010; CUSTÓDIO et al., 2011; DOMICIANO et al., 2013; DUARTE et al., 2013; JULIATTI et al., 2013; LAZAROTO et al., 2012; LENZ et al., 2010; LIMA et al., 2013; MALAGI et al., 2011; NUNES; ALVES, 2012; REIS et al., 2013; SACHS et al., 2011; SALGADO et al., 2009; SOUSA et al., 2014; TERAMOTO et al., 2011; TROJAN e PRIA, 2018; VIVAS et al., 2010).

Tabela 1. Coeficiente angular (a), coeficiente linear (b) e coeficiente de determinação (R^2) da regressão linear real (variável independente) versus a severidade estimada (variável dependente) para a mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*) em milho (*Zea mays* L.), por oito avaliadores (1 ao 4 inexperientes e 5 ao 8 experientes), com e sem a utilização da escala diagramática proposta.

Avaliador	Sem escala			Com escala		
	a	b	R^2	a	b	R^2
Inexperiente						
1	0,7910*	4,3849*	0,6721	0,8706 ^{ns}	3,7098*	0,7529
2	0,6738*	9,2701*	0,6569	0,9584 ^{ns}	5,6745*	0,8315
3	0,6415*	5,9856*	0,4564	0,8029*	8,823*	0,799
4	0,5784*	8,2455*	0,5799	0,6470*	0,5281 ^{ns}	0,8961
Experiente						
5	0,8740 ^{ns}	6,0031*	0,8197	1,0358 ^{ns}	0,8209 ^{ns}	0,9578
6	0,3549*	2,9454*	0,6985	0,8509*	0,5193 ^{ns}	0,9237
7	1,0326 ^{ns}	6,4667*	0,8193	1,0807 ^{ns}	2,7768*	0,9261
8	0,6221*	4,3115*	0,7676	0,8987 ^{ns}	2,0419*	0,9062

* Situação em que a hipótese de nulidade ($a=1$ ou $b=0$) é rejeitada pelo teste t, $p<0,05$.

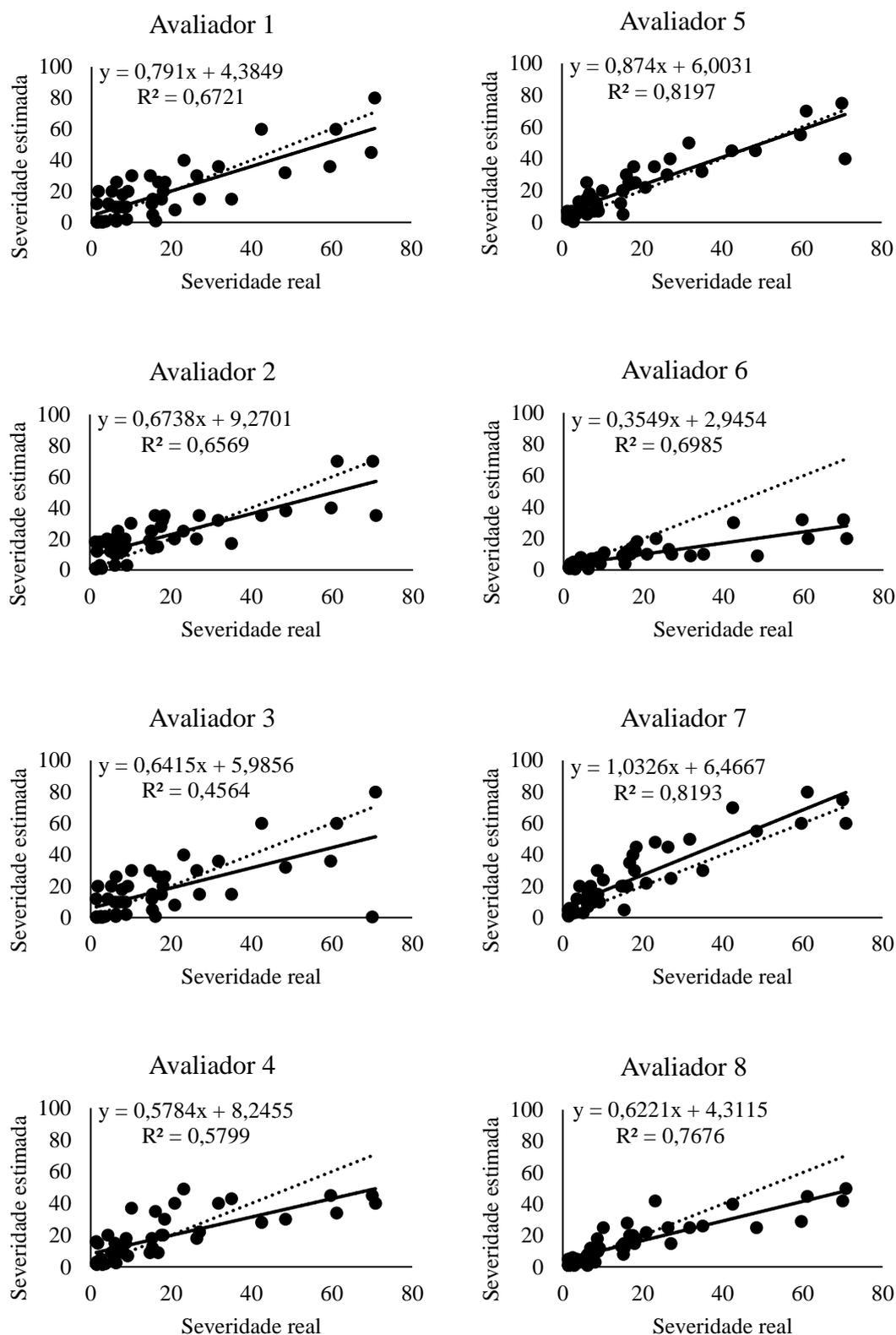


Figura 2. Severidade estimada sem o auxílio da escala diagramática elaborada (•) e regressão linear obtida entre a severidade real e a estimada representada pela linha contínua (–) avaliando a mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*) na cultura do milho (*Zea mays* L.). A linha pontilhada (··) representa a situação ideal, com estimativas de severidade idênticas à real. Avaliadores 1 ao 4 são inexperientes e avaliadores 5 a 8 são experientes.

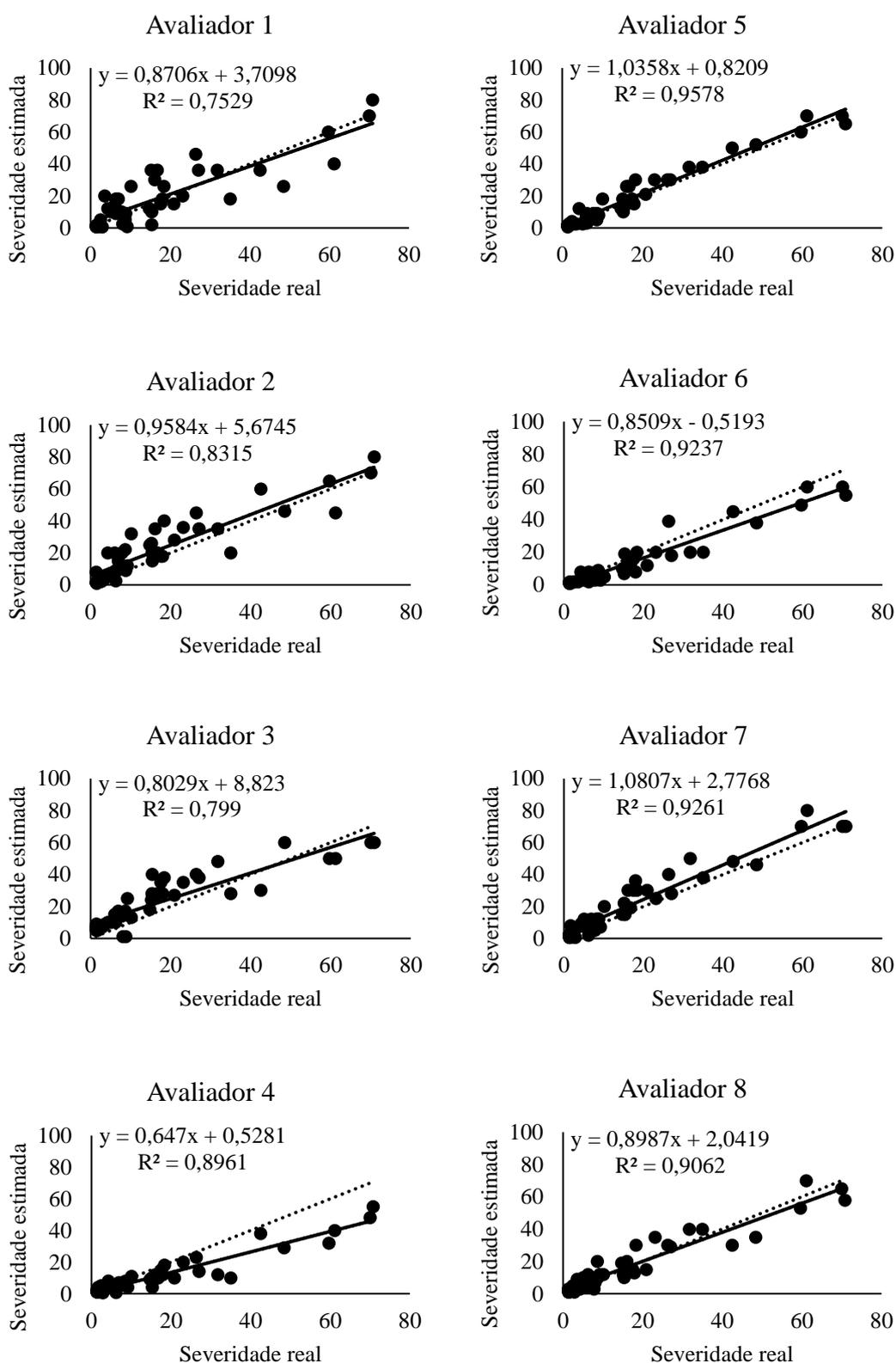


Figura 3. Severidade estimada com o auxílio da escala diagramática elaborada (•) e regressão linear obtida entre a severidade real e a estimada representada pela linha contínua (—) avaliando a mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*) na cultura do milho (*Zea mays* L.). A linha pontilhada (··) representa a situação ideal, com estimativas idênticas á real. Avaliadores 1 a 4 são inexperientes e avaliadores 5 a 8 são experientes.

De acordo com Vivas et al. (2010) e Nunes e Alves. (2012), um fator importante é a realização da observação da variância dos erros absolutos para verificar se as estimativas apresentaram valores convenientes de precisão.

Pode-se verificar nas Figuras 4 e 5 que os erros absolutos das estimativas de severidade para os avaliadores inexperientes sem a utilização da escala proposta, foram tanto positivos quanto negativos, apresentando grande desuniformidade, sem nenhuma tendência verificada, porém, com a utilização da escala, apenas o avaliador 4 mostrou valores positivos indicando superestimava dos níveis de severidade, mas todos os avaliadores inexperientes apresentavam valores mais próximos a reta, ou seja, mais próximos de zero, diminuindo os erros absolutos.

Para os avaliadores experientes, é possível verificar que sem a utilização da escala diagramática (Figura 4) os avaliadores 5 e 7 apresentavam valores de erros absolutos predominantemente negativos, o que demonstra tendência a subestimativas dos valores de severidade, os quais foram mantidos com a utilização das escalas diagramáticas (Figura 5), porém, estes valores estavam mais próximos a zero.

Para o avaliador 6, sem a utilização da escala (Figura 4), houve superestimativa dos níveis de severidade mantidos com a utilização da escala diagramática (Figura 5), mas com maior aproximação de zero. Para o avaliador 8, que apresentou superestimativa dos níveis de severidade sem a utilização da escala diagramática (Figura 4), ou seja, apresentou predominância de valores positivos, com a utilização da escala proposta houve o término desta tendência de superestimativas, apresentando tanto valor negativo quanto positivo (Figura 5).

Levando em consideração a percepção humana, de acordo com Sherwood et al. (1983), geralmente ocorre tendência de superestimar os valores de severidade quando há maior quantidade de lesões pequenas comparado a doenças que apresentam lesões grandes. Neste estudo isso ocorreu em apenas uma parte dos avaliadores, o que evidencia a existência de perspectivas distintas para diferentes avaliadores, visto que cada um possui suas especificidades.

Um determinado avaliador pode sofrer interferência nas estimativas devido à complexidade do formato das lesões ou fadiga e falta de concentração durante o trabalho, o que pode fazer com que sua percepção e estímulos visuais sejam alterados (SACHS et al., 2011).

Sem a utilização da escala diagramática, para os avaliadores inexperientes os erros absolutos variaram, de -25,87 a 69,51 (Figura 4), enquanto que com a utilização da escala, os erros absolutos foram diminuídos para valores de -24,65 a 27,68 (Figura 5). Já entre os avaliadores experientes, sem a utilização da escala foram registrados erros absolutos de -27,98

a 50,83 (Figura 4), porém, ao utilizarem a escala diagramática houve diminuição destes erros que ficaram entre os valores de -12,66 e 15,83 (Figura 5).

Os resultados obtidos demonstram a relevância da utilização das escalas diagramáticas já que a superestimação ou a subestimação da severidade são reduzidos (CAMOCHENA et al., 2008; LAZAROTO et al., 2012) e os erros podem ser minimizados ainda mais com o treino dos avaliadores e uso constante da escala por parte deles (AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2018).

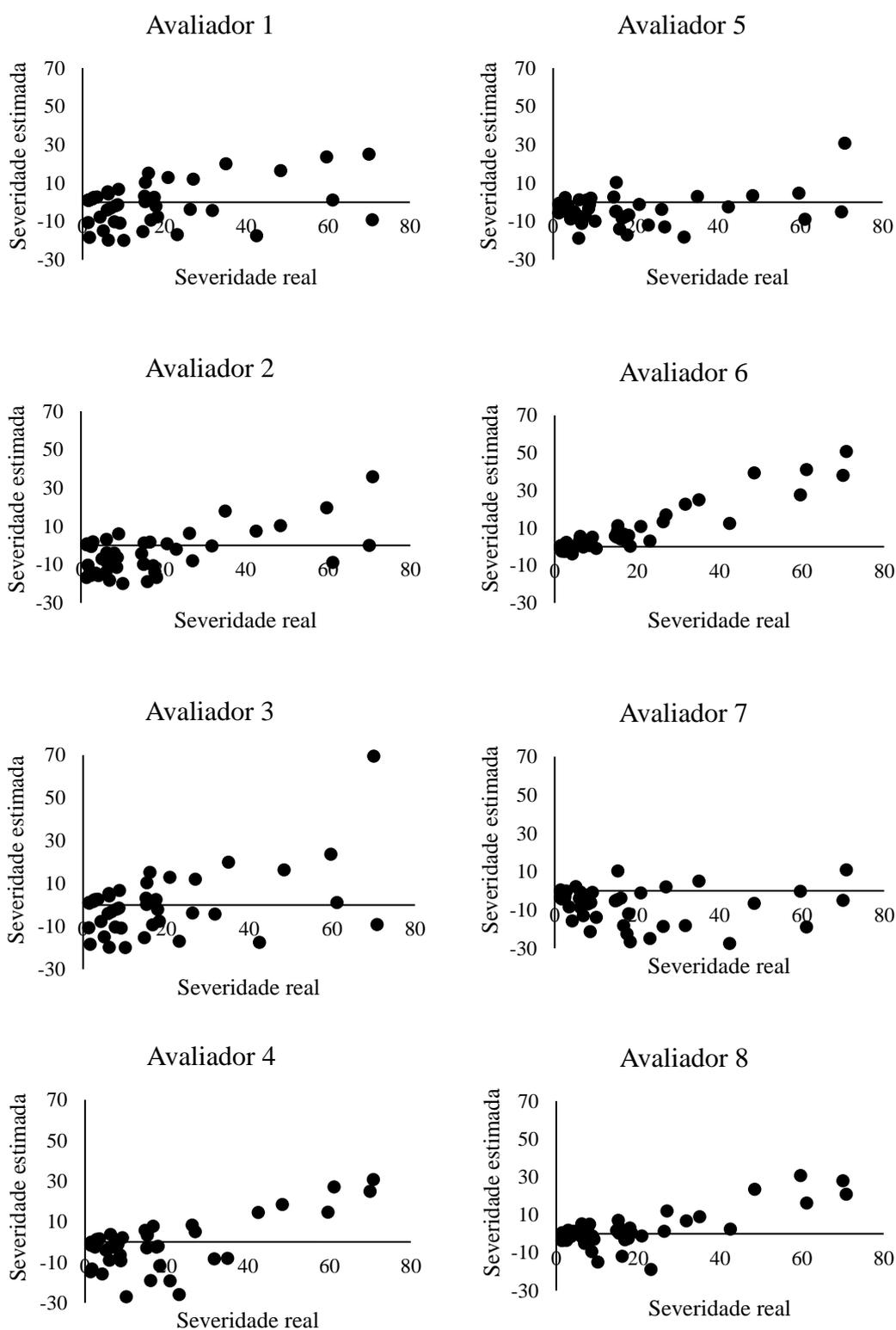


Figura 4. Erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) para oito avaliadores analisando a mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*) na cultura do milho (*Zea mays* L.) sem utilizar a escala diagramática proposta. Avaliadores 1 a 4 são inexperientes, ou seja, nunca utilizaram uma escala diagramática e avaliadores 5 a 8 são experientes, ou seja, já utilizaram uma escala diagramática.

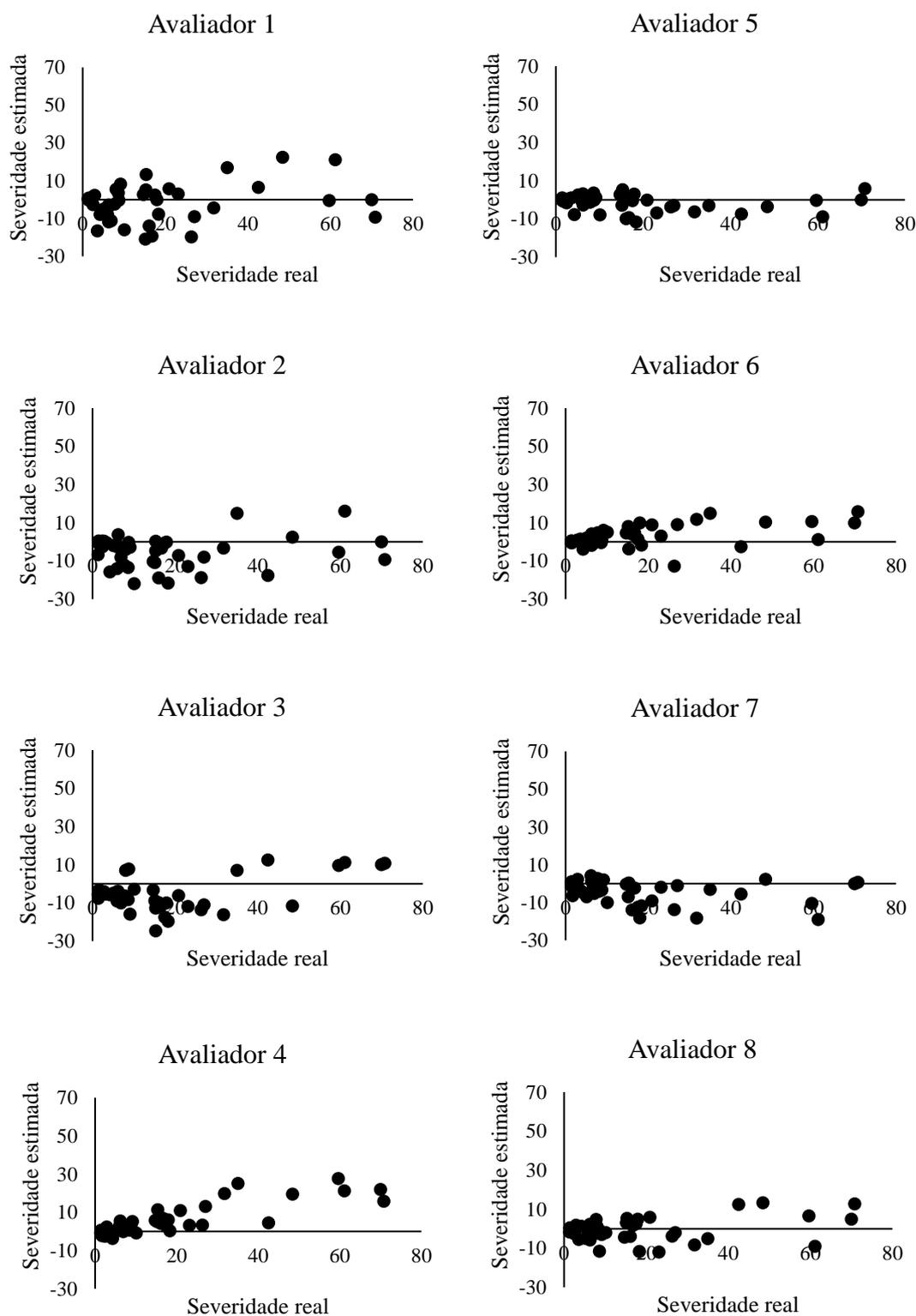


Figura 5. Erros absolutos (severidade estimada menos severidade real) para oito avaliadores analisando a mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*) na cultura do milho (*Zea mays* L.) utilizando a escala diagramática proposta. Avaliadores 1 a 4 são inexperientes, ou seja, nunca utilizaram uma escala diagramática e avaliadores 5 a 8 são experientes, ou seja, já utilizaram uma escala diagramática.

7.4 CONCLUSÃO

Foi possível elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação da severidade da mancha bacteriana da folha (*Pseudomonas avenae*) em milho, sendo que a quantificação acurada e precisa dos sintomas utilizando-a permite recomendá-la como ferramenta nas pesquisas relacionadas a esta doença, além de deixar a quantificação mais rápida otimizando sua utilidade.

7.5 REFERÊNCIAS

ALVES, G.C.S.; SANTOS, L.C.; DUARTE, H.S.S.; DIAS, V.; ZAMBOLIM, L., ROCHA, M.R. Escala diagramática para quantificação da ferrugem da folha do trigo. **Multi-Science Journal**, Urataí, v.1, n.1, p.128-133. 2015.

ALVES, S.A.M.; NUNES, C.C. **Metodologia para elaboração de escalas diagramáticas para avaliação de doenças em plantas**. Comunicado Técnico 120. Bento Gonçalves: Embrapa. Jul. 2012.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios de conceitos**. 5. Ed. Ouro Fino: Ceres, v. 1, 2018. p. 499-518.

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

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

CAPUCHO, A.S.; ZAMBOLIM, L.; DUARTE, H.S.S.; VAZ, G.R. O. Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Plant Pathology**, London, v.60, p.1144-1150, 2011.

CARVALHO, R.V.; PEREIRA, O.A.P.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, v. 2, 2016. p. 549-560.

CHAGAS, H.A.; BASSETO, M.; ROSA, D.; ZANOTTO, M.; FURTADO, E. Escala diagramática para avaliação de mofo cinzento (*Amphobotrys ricini*) da mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.2, p.164-167, 2010.

CHARNET, R.; FREIRE, C.A.L.; CHARNET, E.M.R.; BONVINO, H. **Análise de Modelos de Regressão Linear com Aplicações**. Campinas SP. Editora Unicamp, 1999.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos. **Monitoramento agrícola – Safra 2019/20**, v.7. Safra 2019/20, n.3. Terceiro Levantamento, 2019.

CRUZ, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

CUSTÓDIO, A.A.P.; POZZA, E.A.; GUIMARÃES, S.S.G.; KOSHIKUMO, É. S. M.; HOYOS, J. M. A.; SOUZA, P. E. Comparison and validation of diagrammatic scales for brown eye spots in coffee tree leaves. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1067-1076, 2011.

DOMICIANO, G.P.; DUARTE, H. S.S.; MOREIRA, E. N.; RODRIGUES, F. A. Development and a validation of a set of standard area diagrams to aid in estimation of spot blotch severity on wheat leaves. **Plant Pathology**, London, v.63, n.4, p.922-928, 2013.

DUARTE, H.S.S.; ZAMBOLIM, L.; CAPUCHO, A.S.; NOGUEIRA JUNIOR, A.F.; ROSARDO, A.W. C.; CARDOSO, C.R.; PAUL, P.A.; MIZUBUTI, S.G. Development and validation of a set of standard area diagrams to estimate severity of potato early blight. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v.137, p.249-257, 2013.

HORSFALL, J.C.; BARRATT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v.35, p.665, 1945.

JULIATTI, F.C.; CRATO, F.F.; JULIATTI, F.C.; COUTO, K.R.; JULIATTI, B.C. M. Escala diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n.3, p.676-680, 2013.

LANZA, F.E.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R.V.; DA SILVA, D.D.; QUEIROZ, V.A.V.; PARREIRA, D.F.; MENDES, S.M.; SOUZA, A.G.C.; COTA, L.V. Aplicação foliar de fungicidas e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.51, n.5, p.638-646, 2016.

LAZAROTO, A.; SANTOS, I.; KONFLANZ, V.; MALAGI, G.; CAMOCHENA, R.C. Escala diagramática para avaliação de severidade da Helmintosporiose comum em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.12, p.2131-2137, 2012.

LENZ, G.; BALARDIN, R. S.; CORTE, G. D.; MARQUES, L. N.; DEBONA, D. Escala diagramática para avaliação de severidade de mancha-parda em arroz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.4, p.752-758, 2010.

LIMA, H.E.; NECHET, K.L.; VIEIRA, B.A.H. OLIVEIRA, J.R.; DUARTE, H.S.S.; QUEIROZ, E.S.; OLIVEIRA, F.L. Elaboração e validação de escalas diagramáticas para avaliação da severidade da mancha-bacteriana do feijão - caupi em cultivares com trifólios morfológicamente distintos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.10, p.1735-1743, 2013.

MAFIA, R.G.; FERREIRA, M.A.; BINOTI, D.H.B.; LEITE, H.G. Procedimento estatístico para validação de escalas diagramáticas na quantificação de doenças. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.2, p.199-204, 2011.

MALAGI, G.; SANTOS, I.; CAMOCHENA, R.C.; MOCCELLIN, R. Elaboração e validação da escala diagramática para avaliação da mancha branca do milho. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.42, n.3, p.797-804, 2011.

NUNES, C.C.; ALVES, S.A.M. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da severidade de entomosporiose em folhas de pereira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.38, n.3, p.239-244, 2012.

NUTTER JUNIOR, F.W.; SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Toronto, v.17, p.174-184, 1995.

REIS, E.M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A.C.R. Development and validation of a standard area diagram set to assess blast severity on wheat leaves. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v.136, p.603-611, 2013.

SACHS, P.D.; NEVES, C.J.; CANTERI, M.G.; SACHS, L.G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.4, p.202-204, 2011.

SALGADO, M.; POZZA, E.A.; LIMA, L.M.; PEREIRA, R.T.G.; PFENNING, L.H. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha de Phoma do cafeeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.34, n.6, p.422-427, 2009.

SHERWOOD, R.T.; BERG, C.C.; HOOVER, M.R.; ZEIDERS, K.E. Illusions in visual assessment of stagonospora leaf spot of orchard grass. **Phytopathology**, Saint Paul, v.73, p.173-177, 1983.

SOUSA, S.C.R.; SANTOS, G.R.; RODRIGUES, A.C.; BONIFÁCIO, A.; DALCIN, M.S.; JULIATTI, F.C. Escala diagramática para avaliação da severidade do crestamento gomoso do caule em melancia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.5, p.1314-1324, 2014.

SUSSEL, A.A.B.; POZZA, E.A.; CASTRO, H.A. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade do mofo cinzento em mamoneira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.34, n.3, p.186-191, 2009.

TERAMOTO, A.; AGUIAR, R. A.; GARCIA, R.Á.; MARTINS, M.C.; CUNHA, M.G. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo em folhas de pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.41, n.3, p.439-445, 2011.

TROJAN, D.G.; PRIA, M.D. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose da folha do milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.44, n.1, p.56-64, 2018.

VALE, F.X.R, FERNANDES FILHO, E.I.F., LIBERATO, J.R. QUANT: a software to quantify plant disease severity. Proceeding do **8th International Workshop on Plant Disease Epidemiology**. Ouro Preto, v.1, 2001. 160p.

VIVAS, M.; TERRA, C.E.P.S.; SILVEIRA, S.F.; FONTES, R.V.; PEREIRA, M.G. Escala diagramática para avaliação da severidade de pinta-preta em frutos de mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.2, p.161-163, 2010.

WHITE, D.G. **Compendium of corn diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1999. 78p.

WILLEMS, A.; GOOR, M.; THIELEMANS, S.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.E.; LEY, J. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* and *Acidovorax konjaci*. **International journal of systematic bacteriology**, v.42, p.107-119, 1992.

8 CONCLUSÕES GERAIS

Com relação aos testes *in vitro*, os produtos quelatos à base de cálcio, cobre, manganês e zinco apresentaram inibição da germinação de esporos de *P. sorghi* e *Cercospora* sp., agentes causais da ferrugem comum e da cercosporiose, respectivamente. Neste mesmo experimento, pode-se verificar que o tempo de absorção dos tratamentos tem influência sobre a germinação dos esporos, sendo que tal influência ocorre de forma diferente dependendo do patógeno (Capítulo 2).

Para as condições edafoclimáticas em que o experimento foi realizado, os produtos testados apresentaram pouco efeito sobre os caracteres agrônômicos nos dois anos de condução dos estudos na primeira safra, enquanto que para a segunda safra, não houve nenhuma influência dos produtos (Capítulos 3 e 4).

Considerando a severidade das doenças que apareceram espontaneamente na área do experimento, para a primeira safra de dois anos consecutivos houve pouco efeito dos produtos avaliados, e nas duas segundas safras avaliadas verificou-se que tais produtos não diminuíram a severidade das doenças avaliadas (Capítulos 3 e 4).

Tanto na primeira safra quanto na segunda safra e considerando tanto os caracteres agrônômicos quanto a severidade das doenças é importante ressaltar que estas duas características sofrem influências de diversos fatores, como por exemplo, as condições edafoclimáticas, afinal as condições em que o solo se encontra e como o tempo se comportou no decorrer dos experimentos, assim como a pressão de inóculo, são fatores que interferem de forma direta nos parâmetros avaliados, podendo contribuir de diversas formas para os resultados obtidos (Capítulos 3 e 4).

A ocorrência de tais doenças durante a condução dos experimentos foi importante pois possibilitou a elaboração das escalas diagramáticas para *Diplodia* e para mancha bacteriana, tornando possível sua validação, resultando em escalas assertivas com adequados valores de acurácia e precisão das estimativas, o que garante maior rapidez e facilidade nas avaliações, podendo ser recomendada nas pesquisas relacionadas a estas doenças apresentando, assim, grande utilidade (Capítulos 5 e 6).