

**MARTA SABRINA NIMET**

**FATORES DETERMINANTES DA INCIDÊNCIA DOS ENFEZAMENTOS PÁLIDO E  
VERMELHO EM CULTIVOS DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Eliseu José Guedes Pereira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

N713f  
2022 Nimet, Marta Sabrina, 1994-  
Fatores determinantes da incidência dos enfezamentos  
pálidos e vermelho em cultivos de milho / Marta Sabrina Nimet.  
– Viçosa, MG, 2022.  
1 dissertação eletrônica (33 f.): il. (algumas color.).

.  
Inclui anexo.

Orientador: Eliseu José Guedes Pereira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Entomologia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 24-26.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.553>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Zea mays* - Doenças e pragas. 2. *Dalbulus maidis*.  
3. Bactérias fitopatogênicas. 4. Reação em cadeia de polimerase.  
I. Pereira, Eliseu José Guedes, 1976-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de  
Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 633.15932

**MARTA SABRINA NIMET**

**FATORES DETERMINANTES DA INCIDÊNCIA DOS ENFEZAMENTOS PÁLIDO E VERMELHO EM CULTIVOS DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de agosto de 2022

Assentimento:



---

Marta Sabrina Nimet  
Autora



---

Eliseu José Guedes Pereira  
Orientador

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, e à minha família, por sua capacidade de acreditar em mim e me apoiar perante todas as decisões.  
Ainda, aos meus pais, Madalena e Selmar.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por toda força, ânimo e coragem que me ofereceu para chegar até aqui.

À Universidade Federal de Viçosa quero deixar uma palavra de gratidão por ter me recebido de braços abertos e com todas as condições que me proporcionaram dias de aprendizagem e possibilidade de alcançar o sonhado título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço a todos os professores que se fizeram presentes em meu caminho, pelo conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de aperfeiçoamento pessoal e profissional. Ainda, em especial ao meu orientador Prof. Dr. Eliseu Pereira pelo suporte, direcionamento, correções e acima de tudo, incentivos.

E claro que não posso deixar de agradecer imensamente à minha família e amigos, porque foram eles que me incentivaram e inspiraram através de gestos e palavras a superar todas as dificuldades. Mãe, seu cuidado e dedicação permitiram que eu tivesse esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que nunca estive sozinha. Ao meu namorado, Deivid, agradeço por se manter ao meu lado e compreender todos os momentos de dedicação que se fizeram necessários a esta especialização.

Agradeço também, a Corteva Agriscience, pelo apoio no desenvolvimento dos estudos, buscando sempre o melhor direcionamento aos seus colaboradores. E especialmente aos Coorientadores Renata Ramos Pereira e Josemar Foresti, por dedicarem seu tempo ao desenvolvimento deste trabalho, e ainda, todos os ensinamentos profissionais. Meu muito obrigada, ao Time Agronomia Sul, principalmente ao meu Líder José Carlos Madaloz, pela compreensão e auxílio na finalização dos estudos. Ao colega Thiago Costa, pela assistência na geração dos dados.

Por fim, a todas as pessoas que, mesmo não citadas diretamente aqui, de alguma forma, me deram suporte e acreditaram em mim, quero deixar um agradecimento eterno, porque sem elas não teria sido possível.

*“Para cultivar a sabedoria, é preciso força interior. Sem crescimento interno, é difícil conquistar a autoconfiança e a coragem necessárias. Sem elas, nossa vida se complica. O impossível torna-se possível com a força de vontade”*

(Dalai Lama)

## RESUMO

NIMET, Marta S., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Fatores determinantes da incidência dos enfezamentos pálido e vermelho em cultivos de milho**. Orientador: Eliseu José Guedes Pereira.

O milho lidera o ranking da produção mundial de cereais, com 1,2 bilhão de toneladas, correspondente a 40% da produção global. Em muitos desses cultivos, contudo, a produtividade é reduzida por fatores de perdas, tais como infestação pela cigarrinha *Dalbulus maidis*, capaz de transmitir patógenos do complexo de enfezamentos do milho. Esses incluem mollicutes (espiroplasma e fitoplasma) e vírus. Apesar do grande impacto desse problema sanitário vegetal na produtividade do cereal, faltam dados sobre a ocorrência relativa dos agentes causais dos enfezamentos nas regiões produtoras de milho. Desse modo, no presente estudo buscou-se compreender a relação da ocorrência de enfezamentos e seus tipos, com a época de semeadura e a localização geográfica do cultivo. Foram utilizados dados coletados em cultivos em municípios da Região Sul do Brasil e parte do Mato Grosso do Sul. As amostras foram coletadas de plantas de milho em cultivos comerciais com sintomas visuais de enfezamento e encaminhadas ao laboratório de fitopatologia da Corteva, em Palmas, TO. As amostras foram submetidas à extração de DNA e reação de PCR para detecção dos patógenos. Os dados obtidos foram tabulados, calculando-se a proporção das amostras contendo somente um dos patógenos, ambos ou nenhum deles, além da ocorrência em determinadas regiões e a época do cultivo. A frequência relativa dos enfezamentos, variável resposta, foi analisada usando modelos lineares generalizados em função de vários fatores explicativos, tais como época de cultivo, cultivo anterior, entre outros. Foram confeccionados mapas pelo método de Krigagem, obtendo-se figuras de distribuição espacial dos enfezamentos. Os resultados mostraram não haver prevalência de uma ou outra espécie de patógeno: as frequências relativas foram de 37% das amostras somente com enfezamento pálido, 38% somente com enfezamento vermelho e 22% de amostras com ambos. As lavouras semeadas na 2ª safra (fevereiro-julho) apresentaram uma incidência maior dos patógenos dos enfezamentos,  $61,5 \pm 3,0$  % contra  $45,1 \pm 3,4$  % de incidência na 1ª safra ( $P < 0,05$ ). Nessa diferença foi determinante a incidência de enfezamento vermelho, que aumentou de 40% para 90% a partir do oitavo mês (abril) do início do ano agrícola (agosto). Nas áreas onde se cultivou milho seguido de milho, a incidência

dos patógenos foi maior (>70%) que nas áreas onde o cultivo do milho foi precedido por cultivo de soja, trigo ou aveia. Cerca de 20% das amostras de milho voluntário tinham uma ou outra espécie dos patógenos dos enfezamentos. Esses resultados auxiliam no entendimento da prevalência dos tipos de enfezamento e os fatores favoráveis à incidência da doença nos campos de cultivo de milho. Essas informações são úteis na tomada de decisões mais assertivas para manejo do problema, tais como o desenvolvimento de híbridos de milho tolerantes e o posicionamento adequado deles, considerando a prevalência regional dos tipos de enfezamento e o patógeno associado.

**Palavras-chave:** *Zea mays*. *Dalbulus maidis*. Espiroplasma e Fitoplasma. *Polimerase Chain Reaction* (PCR). Incidência e Prevalência. Época e Sucessão de Cultivo.

## ABSTRACT

NIMET, Marta S., M.Sc., Universidade Federal do Viçosa, August 2022. **Factors determining the incidence of corn stunt spiroplasma and maize bushy phytoplasma in maize crops**. Advisor: Eliseu José Guedes Pereira.

Corn leads the ranking of world cereal production, with 1.2 billion tons, corresponding to 40% of global production, but in many cornfields the productivity is reduced by loss factors, such as the attack of the corn leafhopper *Dalbulus maidis*, which can transmit the pathogens of the corn stunting complex. These pathogens include mollicutes (spiroplasma and phytoplasma) and viruses. Despite the major impact of this plant health problem on corn productivity, data on the relative occurrence of the causal agents of corn stunt in corn growing regions is lacking. Thus, the present study sought to understand the relationship between the occurrence of types of stunt pathogens with the sowing season and the geographic location of the crop. Data collected from cornfields in municipalities in the South Region of Brazil and part of Mato Grosso do Sul were used. The samples were collected from corn plants in commercial crops with visual symptoms of corn stunt and sent to the phytopathology laboratory of Corteva, in Palmas, TO. The samples were subjected to DNA extraction and PCR reaction for pathogen detection. The data obtained were tabulated, calculating the proportion of samples containing only one of the pathogens, both, or none of them, as well as the occurrence in certain regions and the crop season. The relative frequency of stunting, the response variable, was analyzed using generalized linear models as a function of several explanatory factors, such as growing season, previous crop, and others. Maps were made using the Kriging method, producing figures of spatial distribution of stunting. The results showed no prevalence of one or another species of pathogen: the relative frequencies were 37% of the samples only with corn stunting spiroplasma, 38% only with maize bushy phytoplasma and 22% of samples with both. The fields sown in the 2<sup>nd</sup> growing season (the 'safrinha', February–July) presented a higher incidence of the pathogens,  $61.5 \pm 3.0$  % against  $45.1 \pm 3.4$  % incidence in the 1<sup>st</sup> growing season ( $P < 0.05$ ). The incidence of maize bushy phytoplasma determined this difference, increasing from 40% to 90% in the eighth month (April) from the beginning of the agricultural year (August). In the areas where corn was grown followed by corn, the pathogens incidence was higher (>70%) than in areas where corn cultivation was preceded by soybeans, wheat or oat cultivations. About 20% of the voluntary corn

samples had one or another pathogen species of the corn stunting complex. These results help understand the prevalence of the corn stunting types and the factors favoring their incidence in corn fields. This information helps make more assertive decisions for the management of the problem, such as the development of tolerant corn hybrids and their adequate positioning, considering the regional incidence of the types of stunting disease and the associated pathogen.

**Keywords:** *Zea mays*. *Dalbulus maidis*. Spiroplasma and Phytoplasma. *Polimerase Chain Reaction* (PCR). Incidence and Prevalence. Season and Succession of Cultivation.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
2.1	Coleta de amostras de material vegetal .....	15
2.2	Extração de DNA e identificação dos patógenos.....	15
2.3	Análise dos dados.....	16
2.4	Análise espacial .....	16
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
4.	CONCLUSÕES E IMPLICAÇÕES .....	23
	REFERÊNCIAS .....	24
	TABELAS E FIGURAS .....	27
	ANEXO DE FIGURAS .....	32

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays*) é uma das mais importantes no contexto econômico e social no mundo, sendo a “*commodity*” líder em termos de produção mundial de cereais. No Brasil, está difundido em todas as regiões do país, sendo cultivado em uma área de 20 milhões de hectares, com produção de cerca de 87 milhões de toneladas na safra 2020/21, enquanto para a safra 2021/22, estima-se que o volume ultrapasse 115 milhões de toneladas, com aumento de apenas 6% da área cultivada (Conab, 2022; Faggion, 2017). Esse incremento de produtividade (32%), sem aumento significativo de área cultivada, deve-se às mudanças no sistema de produção, com a utilização de sistemas de irrigação, utilização de híbridos mais adaptados regionalmente, etc (Mantovani et al., 2015).

Ainda, as características climáticas do Brasil, permitem a produção de milho em diferentes épocas. O cultivo de verão, também denominado primeira safra, é semeado na primavera/verão e predomina na maioria das regiões produtoras, com exceção das regiões Norte e Nordeste, onde a concentração de chuvas em janeiro, aloca o plantio para o período de semeadura denominado segunda safra (Contini et al., 2019). Já na região Centro-Sul do Brasil, a semeadura da segunda safra é feita, principalmente, após a colheita da soja, concentrando-se no verão/outono, podendo ser denominada, também, como safrinha. Para a padronização da Conab, considera-se segunda safra todo o cultivo do milho realizado após o mês de janeiro (Contini et al., 2019).

Entretanto, essas transformações no sistema de plantio podem propiciar o desenvolvimento e permanência de pragas e doenças devido à ponte verde, existência de plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, que é criada nesse cenário (Alves & Foresti, 2017).

Entre as pragas de maior importância estão a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) e a broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). Entre os percevejos, os de maior importância econômica na fase inicial do estabelecimento da cultura são *Dichelops furcatus* (Fabricius) e *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). Entretanto, na última década os maiores problemas foram observados pela ocorrência da *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera).

A cigarrinha do milho *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) é uma das pragas que vêm se destacando, devido a crescente ocorrência e danos causados em cultivos de milho (Sabato, 2017a; Souto et al., 2019). É um inseto sugador, com cerca de 3,7 a 4,3 mm de comprimento, de coloração amarelo-palha e asas semitransparentes (Ribeiro; Canale, 2021). Os adultos apresentam duas manchas circulares negras facilmente visíveis na parte dorsal da cabeça, entre os olhos compostos, e podem ser encontradas no cartucho das plantas de milho (Figura A1). São insetos hemimetábolos e apresentam aparelho bucal do tipo sugador labial (Pinto, 2021).

As fêmeas fazem postura endofítica, ou seja, inserem seus ovos no mesófilo das folhas do milho, preferencialmente próximo da nervura central (Waquil, 2004). O período embrionário é de cerca de 8 dias e as ninfas (fase jovem) passam, em geral, por cinco ínstaros com duração média de 17 dias à temperatura de 26°C. Os adultos apresentam longevidade de 51 a 77 dias e cada fêmea pode ovipositar entre 400 a 600 ovos. O ciclo biológico (ovo a adulto) varia de 15 a 27 dias, dependendo da temperatura e da umidade do ambiente (Oliveira & Silva, 2017). Em temperatura de 27 °C a 32 °C pode haver maior número de ciclos da cigarrinha, devido o encurtamento do desenvolvimento embrionário e da fase ninfal e, conseqüentemente, maior proliferação de indivíduos e maior densidade populacional, principalmente de outubro a março (Waquil et al., 1999; Epagri, 2022).

A cigarrinha é um inseto monófago e tem o milho como única planta hospedeira para reprodução e conclusão de ciclo biológico. Entretanto, durante os períodos de entressafra, a cigarrinha pode utilizar outras espécies de gramíneas para alimentação ou abrigo, tais como sorgo, braquiárias, capim-colonião, marmelada, aveia, trigo, triticale e cana-de-açúcar, especialmente, quando estes hospedeiros são cultivados próximos ao milho. (Sabato, 2017b). Porém, a longevidade de adultos nesses hospedeiros alternativos é significativamente reduzida (Oliveira; Canale, 2021).

Embora *D. maidis* seja um inseto sugador de seiva, esse dano direto não é o de maior gravidade. A transmissão, de forma persistente, dos microrganismos denominados mollicutes são os reais causadores de perdas econômicas no milho (Waquil., 2004; Sabato et al., 2018).

Transmitidos pela cigarrinha, os mollicutes invadem sistemicamente e multiplicam-se nos tecidos do floema da planta de milho, interferindo no crescimento e desenvolvimento das plantas, reduzindo a absorção de nutrientes e afetando os

processos de translocação de fotoassimilados, para o enchimento dos grãos e formação de espigas (Embrapa, 2017). Além disso, favorece à infecção por fungos causadores de podridão de colmo e comprometem a produtividade da cultura (Adapar, 2020). Embora a infecção com mollicutes ocorra nos estádios iniciais de desenvolvimento das plântulas de milho, os sintomas dos enfezamentos manifestam-se por ocasião do enchimento de grãos, fase reprodutiva, porém isso pode variar de acordo com o grau de tolerância do híbrido, condições ambientais, época de plantio e carga inicial dos patógenos transmitidos pela cigarrinha.

Os mollicutes são responsáveis pelas doenças conhecidas como enfezamento pálido (*corn stunt spiroplasma* – CSS), enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma* – MBSP) e um vírus, causador do rayado fino (*maize rayado fino marafivirus* – MRFV) (Waquil., 2004).

O enfezamento pálido é causado por um espiroplasma, *Spiroplasma kunkelli*, e caracteriza-se pela formação de estrias esbranquiçadas irregulares nas folhas, a partir da base (Alves, 2015). Plantas doentes apresentam, inicialmente, largas listras descoloridas, amareladas ou verde-limão na base das folhas infectadas. Posteriormente, todas as novas folhas emitidas pelas plantas apresentarão o mesmo sintoma. Simultaneamente, as folhas mais velhas apresentam coloração amarelada ou mesmo com tons vermelhos (Figura A3). Os primeiros sintomas aparecem entre três e quatro semanas após a inoculação. A planta infectada, dependendo do estágio de desenvolvimento em que ocorreu a infecção, pode apresentar encurtamento dos internódios, pequenas bonecas e espigas, anomalias no pendão e deformação ou total ausência da inflorescência feminina (Sabato, 2018).

Já o enfezamento vermelho, causado por um fitoplasma é caracterizado por um avermelhamento intenso e generalizado da planta, geralmente associado à proliferação de espigas, que pode ocorrer em uma ou várias axilas foliares na planta, dependendo da reação da cultivar. Podem ocorrer, também, encurtamento dos internódios (anã), perfilhamento e desenvolvimento de várias gemas florais, dando à planta a aparência de arbusto (Alves and Foresti, 2017; Oliveira et al., 2002). Plantas de milho infectadas pelo fitoplasma exibem os primeiros sintomas depois da segunda semana (Figura A2). O fitoplasma também é conhecido como “raça mesa central”, sugerindo a associação de sua incidência a áreas de maior elevação e com temperaturas amenas (Waquil, 2004).

No campo, em geral, não é possível realizar a diferenciação segura entre os enfezamentos (pálido e vermelho), com base apenas nos sintomas das plantas, devido à similaridade dos sintomas a outras doenças e a possibilidade de infecção simultânea das plantas por espiroplasma e fitoplasma (Sabato, 2018). Desde a década de 70, os enfezamentos vêm sendo descritos em campos de milho no Brasil. Os patógenos eram observados e diferenciados em laboratório, inicialmente, por meio da microscopia eletrônica (Sabato 2017). Posteriormente, a partir da década de 90, passou-se a utilizar o teste sorológico ELISA, para a detecção, e o teste de PCR (reação em cadeia da polimerase) para diferenciação.

Apesar dos enfezamentos virem ganhando destaque devido as perdas expressivas, safra após safra, nota-se a necessidade de novas informações sobre a frequência de ocorrência dos agentes causais nas regiões produtoras de milho. A interação entre hospedeiro, patógenos e o ambiente apresenta aspectos a serem esclarecidos, principalmente em relação à infecção mista e à expressão de sintomas pela planta (Galvão, 2019). O monitoramento das áreas produtoras torna-se imprescindível, a fim de compreender a predominância de ocorrência de fitoplasma e/ou espiroplasma e, assim, tornar a tomada de decisões e manejo da praga mais eficientes (Côrrea-Ferreira, 2012; Galvão, 2019; Valicente, 2015).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi determinar a relação da frequência dos enfezamentos do milho com a época de semeadura, o cultivo anterior da área e a localização geográfica das amostras na Região Sul do Brasil e Mato Grosso do Sul.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de amostras de material vegetal

Neste trabalho foram utilizados dados coletados em 2019 e 2020 em lavouras comerciais nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul. Foram utilizadas como amostras, tanto folhas de milho com sintomas de enfezamento, como insetos adultos da cigarrinha do milho (*D. maidis*). No momento da coleta, não foram feitas distinções quanto ao tipo de enfezamento, coletando-se plantas que apresentavam sintomas relacionados, como: folhas avermelhadas, sobretudo nas margens das extremidades, folhas com estrias esbranquiçadas na base, multiespigamento e/ou redução de porte da planta.

O número de amostras coletado por local foi definido em função da representatividade da área a ser amostrada/levantada. Cada amostra constituiu-se de o material vegetal sintomático de aproximadamente 25 cm<sup>2</sup> ou dez insetos de *D. maidis* para cada ponto amostral. O material coletado foi acondicionado em tubo Falcon®, 15 mL com álcool etílico (70%), e encaminhado para o laboratório de fitopatologia da estação de pesquisa da Corteva Agriscience, Palmas – TO, para extração de DNA e identificação do patógeno por PCR.

### 2.2 Extração de DNA e identificação dos patógenos

O álcool contido nos tubos das amostras foi descartado e as folhas foram secas com papel toalha e picadas em pedaços pequenos. Para a amostra de insetos, transferiu-se as cigarrinhas coletadas para um tubo de 2 mL contendo 0,5 mL da solução. Foram adicionadas 2 esferas de metal e 1000 µL de solução HotShot (NaOH + Na<sub>2</sub> EDTA) por amostra, e foi realizada a maceração no Genor/Grinder (moinho) 2X a 1100 RPM por 30 segundos. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em estufa por 1:30 h a 96°C. As amostras foram retiradas da estufa e quando frias, centrifugadas a 3500 RPM a 20 °C por 5 minutos. Por fim, em um tubo novo, foi adicionado 288µL de TE + 50µL de DNA.

As amostras foram submetidas a reações de PCR, utilizando-se o termociclador Rotor-Gene Q®, empregando-se *primers* universais para identificação do espiroplasma e do fitoplasma, simultaneamente. Foi utilizado o par de primers CSSF2 e CSSR6 (BARROS et al., 2001) para detecção do espiroplasma e R16F2 e R16R2 (LEE et al., 1995) para detecção do fitoplasma. Para controle positivo, foi utilizado o

DNA de uma planta infectada pelos patógenos de interesse, fitoplasma e espiroplasma. No controle negativo foi utilizado somente água.

### 2.3 Análise dos dados

Com base nos resultados das análises de PCR, calculou-se para cada local de coleta a frequência das amostras contendo somente um patógeno, ambos ou nenhum deles. Calculou-se a incidência (% de amostras em dado local) de patógenos do enfezamento pálido, do enfezamento vermelho, ambos, e de qualquer dos patógenos. Para testar se havia prevalência de um dos patógenos ou de ambos, suas incidências parciais foram linearmente regredidas em função da incidência total dos patógenos. Se houver prevalência, uma incidência parcial dos patógenos terá valor de inclinação da reta superior às demais com base no teste  $t$  ( $p < 0,05$ ).

Para investigar a relação da incidência dos patógenos com fatores explicativos, os dados foram analisados usando modelos lineares generalizados em função de vários fatores incluindo ano, safra, mês de plantio (safra), precocidade do híbrido e cultivo anterior da área de coleta. Foi utilizada a distribuição binominal com a função de ligação padrão no programa estatístico SAS. Quando os efeitos foram significativos pelo teste  $F$  ( $p < 0,05$ ), os dados foram adiante analisados para se visualizar as tendências que pudessem mostrar. As incidências acima descritas foram submetidas à análise de regressão ( $p < 0,05$ ). O modelo de regressão utilizado foi a curva de dose-resposta sigmoide (parâmetros  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$ ), representada pela equação  $y = a + b / (1 + (x/c)^d)$ , onde  $y$  é incidência dos patógenos (%) e  $x$  é o tempo (mês de plantio partindo-se do início do ano agrícola).

### 2.4 Análise espacial

O método de Krigagem Ordinária foi utilizado como interpolador geoestatístico para possibilitar a construção dos mapas de distribuição espacial dos enfezamentos (Isaaks; Srivastava, 1989). Esse método confere predições confiáveis com variância pequena, quando comparado a outros interpoladores (Webster and Oliver 2007; Li and Heap 2011, Galdino et al. 2017). Portanto, semivariogramas foram ajustados aos dados de ocorrência de cada enfezamento para cada época de plantio. Os modelos exponenciais, esférico e Gaussiano foram considerados nesse ajuste. Além disso, para verificar se a dependência espacial era a mesma (isotropia), ou mudava em

função da direção (anisotropia), foram construídos modelos nas direções de 0°, 45°, 90° e 135°. O melhor modelo foi selecionado através do método de validação cruzada. Os modelos selecionados foram aqueles com valores de Erro Médio próximos a zero, Erro Médio Quadrático Padronizado (RMSSE) próximo a um e o menor valor de Erro Médio Quadrático (RMSE) (ESRI 2016). O grau de dependência espacial (GDE) de cada semivariograma foi calculado através da relação entre o efeito pepita ( $C_0$ ) e o patamar ( $C_0 + C$ ), de acordo com a seguinte fórmula:  $GDE = C_0 / (C_0 + C)$ . O GDE foi classificado como forte ( $\leq 0,25$ ), moderado ( $> 0,25$  e  $\leq 0,75$ ) e fraco ( $> 0,75$ ) (Cambardella et al. 1994; Sciarretta e Trematerra 2006). Todas análises geoespaciais foram realizadas no software ArcGIS versão 10.4.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 328 amostras, 53% apresentavam a presença de pelo menos um dos patógenos causadores de enfezamento no milho, 38% tinham apenas *Maize Bushy Stunt Phytoplasma* (enfezamento pálido) e 37% apenas *Corn Stunt Spiroplasma* (enfezamento vermelho). A presença simultânea de ambos patógenos ocorreu em 22% das amostras.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na inclinação da curva de prevalência de uma única espécie de patógeno do enfezamento (vermelho ou pálido), mas ambas as curvas foram mais inclinadas que a curva da ocorrência simultânea dos patógenos (Figura 1 e Tabela 1). Ou seja, as frequências relativas de ocorrência de somente uma das espécies de patógeno da doença foram semelhantes entre si e maiores que a da ocorrência conjunta, seja em locais com baixa ou alta porcentagem (incidência) de indivíduos infectados por patógeno de pelo menos um dos enfezamentos.

A análise de variância dos dados revelou que a ocorrência dos patógenos do enfezamento variou significativamente ( $p < 0,05$ ) com a safra (verão ou safrinha), o mês de plantio dentro da safra e com o cultivo anterior da área. Assim, no presente monitoramento a ocorrência de patógenos dos enfezamentos, em geral, não dependeu do ano e nem da precocidade do híbrido ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2). Esse padrão de ocorrência foi o mesmo para a ocorrência de apenas enfezamento vermelho. Enquanto a ocorrência do enfezamento pálido variou somente com o cultivo anterior ( $p < 0,05$ ). Por fim, a ocorrência conjunta de ambos os enfezamentos variou com a safra e o cultivo anterior (Tabela 2). Esse último fator foi o único que esteve relacionado com a ocorrência de qualquer dos patógenos.

Não houve prevalência significativa de um ou outro patógeno, 38% com *MBSP*, e 37% de *CSS*. Todavia, a ocorrência simultânea, 22%, torna-se fato que provoca atenção. Nos últimos anos, ocorreu um acentuado crescimento da área cultivada com milho de segunda safra, em algumas regiões havendo mais de uma safra de milho por ano. Também, a grande proliferação do milho espontâneo, o cultivo do milho irrigado e as condições climáticas atípicas têm elevado a altas incidência e severidade do complexo de enfezamentos em algumas regiões do Brasil.

A infecção mista pode ser reflexo dessa sucessão de cultivos de milho, que proporciona maior permanência de plantas no campo, as quais servem de ponte verde

para a praga, permitindo a alimentação e reprodução do inseto vetor durante todo o ano. Consequentemente, com plantas por mais tempo no campo e maior população do veto a transmissão do patógeno aumenta, e plantas já contaminadas por um acabam por receber o segundo patógeno e, portanto, servirão de inóculo para cigarrinhas sadias.

A campo, os sintomas mais visíveis são plantas com avermelhamento das margens e da ponta das folhas, espigas reduzidas, com poucos grãos. Alguns genótipos podem apresentar apenas clorose na margem e na ponta das folhas, seguida por seca, encurtamento dos internódios e formação de espigas pequenas. Além disso, pode ocorrer alta frequência de quebramento e acamamento das plantas, devido à entrada de fungos oportunistas. Com base apenas nos sintomas das plantas, não é possível uma diagnose segura devido à similaridade dos sintomas e possibilidade de infecção simultânea das plantas.

Observando-se a distribuição geográfica de ocorrência dos patógenos, dois fatores merecem destaque. A prevalência de determinado patógeno quanto à safra e como a centralização de lavouras em determinadas regiões devem levar à concentração de amostras positivas (Figuras 2 e 3). De acordo com a interpolação, o espiroplasma teve maior ocorrência em regiões mais quentes, enquanto o fitoplasma foi mais recorrente em regiões de temperatura mais amena. Parece também ter havido influência da safra sobre um e outro patógeno.

A distribuição de plantios nos estados estudados é caracterizada, em sua maioria, pela concentração de plantios de primeira safra (safra de verão) nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Apenas algumas lavouras são implementadas nas demais regiões para o cultivo de grãos. Já a segunda safra é conduzida em sua maioria nos estados do Paraná e Mato Grosso do Sul, dado que temperaturas baixas e geadas normalmente ocorrem nesse período nas regiões mais extremas do país. Nas regiões mais ao Sul, o plantio de segunda safra, normalmente é utilizado para a produção de silagem.

Em outros países como o Brasil onde ambos os tipos de enfezamento são considerados relevantes para a cultura, têm sido relatadas a predominância de um patógeno sobre o outro, em função dos locais de baixa e alta altitude (Galvão, 2019). No presente estudo, também observou-se relação da época de plantio com ocorrência dos patógenos. As lavouras semeadas na 2ª safra, de fevereiro a julho, apresentaram uma incidência maior de patógenos dos enfezamentos (1ª safra:  $45,1 \pm 3,4$  % vs. 2ª

safrá:  $61,5 \pm 3,0 \%$ ;  $p < 0,05$ ). Essa diferença foi devido à variação na incidência dos patógenos do enfezamento vermelho ( $34,6 \pm 3,4$  vs.  $42,4 \pm 3,1 \%$ ), mas não do enfezamento pálido, que não variou significativamente (Tabela 2, Figura 4a, b). O modelo de curva sigmoidal descreve satisfatoriamente ( $p < 0,05$ ) a incidência total dos patógenos do enfezamento nos cultivos, havendo um aumento praticamente gradual com o mês de implantação da lavoura (Figura 4b). Modelo semelhante descreve a curva de incidência de patógenos do enfezamento vermelho, porém com abrupto aumento da incidência no oitavo mês (abril) após início do ano agrícola (agosto). Por outro lado, não houve relação significativa ( $p > 0,05$ ) do mês de plantio com a incidência de enfezamento pálido ou com a de ambos patógenos (Tabela 2, Figura 4a, b).

Galvão (2019) avaliando a distribuição e incidência dos patógenos em alguns estados brasileiros observou uma correlação entre a predominância de um patógeno sobre o outro em função da temperatura. Neste estudo, as regiões de maior incidência de espiroplasma apresentaram temperaturas anuais médias de  $25^{\circ} \text{C}$  a  $30^{\circ} \text{C}$ , enquanto o fitoplasma predominou nas regiões de temperaturas mais amenas, variáveis entre  $18^{\circ} \text{C}$  e  $22^{\circ} \text{C}$ . Assim, os resultados deste trabalho demonstram a predominância de enfezamento vermelho em regiões ou épocas do ano de temperaturas mais amenas.

Também, Oliveira et al. (2007) constataram que temperaturas médias acima de  $17^{\circ} \text{C}$  à noite e de  $27^{\circ} \text{C}$  durante o dia se mostraram favoráveis ao desenvolvimento dos enfezamentos, ocasionando maior e mais rápida multiplicação dos patógenos tanto nas plantas como nos insetos vetores. Ainda, Oliveira et al., (2002) obtiveram maior ocorrência de espiroplasma, em plantas e no inseto-vetor, em temperaturas em torno de  $31^{\circ} \text{C}$  e  $25^{\circ} \text{C}$ , durante o dia e a noite, respectivamente, evidenciando que temperaturas mais altas favorecem o desenvolvimento do espiroplasma, bem como, temperaturas mais amenas teriam um efeito negativo sobre a multiplicação do espiroplasma, implicando na predominância do fitoplasma.

Costuma-se predominar a campo plantas avermelhadas durante o plantio denominado de segunda safra. Outro fato bem claro é o crescimento da população insetos-vetor conforme avança-se no ano agrícola. Monitoramentos realizados pela Epagri-SC (2021) demonstram um crescimento exponencial do número de insetos coletados nas armadilhas à medida que os plantios da planta hospedeira avançam e as temperaturas aumentam.

Quanto ao fator de cultivo anterior, a frequência de ocorrência dos patógenos foi maior (70-80%) em lavouras de milho precedido de milho (Figura 4). A frequência foi menor (aproximadamente 40%) nas demais culturas, incluindo soja, trigo, aveia e outras não especificadas, que não diferiram entre si. Houve também a ocorrência dos patógenos em plantas voluntárias de milho, em frequência semelhante àquelas dos cultivos de milho (Figura 5).

Em grande parte dos estados estudados, utiliza-se a dinâmica de condução de lavouras em sucessão. É comum sucessões dos tipos milho-soja-milho, milho-trigo, milho primeira safra - milho silagem na segunda safra, o que permite a permanência de milhos em diversos estados fenológicos, quase o ano todo, aumentando as áreas de sobrevivência do inseto. Como mostrado pelos resultados deste trabalho, há maior incidência do complexo do enfezamento em áreas de monocultura, de milho sobre milho. Destaca-se que esse sistema leva à formação de pontes verdes, possibilitando a migração contínua do inseto-vetor e a presença ininterrupta do hospedeiro e de fonte de inóculo a campo.

No entanto, mesmo em lavouras de cultura antecessora com espécies diferentes da hospedeira do inseto, observa-se incidência de enfezamentos. Um fator que costuma ser destacado no Brasil, e que pode afetar a ocorrência de enfezamentos, é a ampla utilização de cultivares de milho com tecnologia de resistência a herbicida. Essa adoção facilita o manejo durante a condução da lavoura, mas pode tornar o milho voluntário (“tiguera”) de difícil manejo e contribuir para a presença da planta hospedeira em todos os meses do ano. Neste trabalho, houve uma relativamente baixa ocorrência de enfezamento nas áreas de milho tiguera, talvez porque cada vez menos as áreas permanecem em pousio na Região Sul. São nessas onde vegetam as plantas de milho tiguera, as quais no presente trabalho tiveram menor representatividade nas amostras coletadas.

A quebra do ciclo biológico de *D. maidis* e da ponte verde na cultura é decisiva no manejo do inseto-vetor. Assim, o controle de milho voluntário na entressafra é enunciado como uma importante prática de manejo dos enfezamentos. Mesmo assim, na ausência do milho, a cigarrinha pode dispersar por longas distâncias como uma estratégia de sobrevivência. Ainda, pode ocorrer o alojamento do inseto em restos culturais de milho e outras gramíneas como o trigo e a braquiária. No entanto, o inseto parece não se reproduzir nesses hospedeiros alternativos, além de não infectar essas espécies com os mollicutes (Cota et al., 2017; Sabato, 2017a).

Ao longo dos anos, pode estar ocorrendo uma mudança na população dos patógenos, com seleção de variantes mais agressivas e que se adaptam melhor às novas condições de cultivo do milho. Essa mudança pode também estar associada as mudanças climáticas. Esse fator tem sido apontado como possível causa do agravamento dos danos causados pelos enfezamentos, por favorecer o desenvolvimento dos patógenos (Oliveira et al., 2009).

A intensificação do cultivo de milho, associado a amplitude de época de semeadura no ano, e do crescente incremento das áreas cultivadas na segunda safra, tem causado, a cada ano, o aumento da população de *D. maidis* em todas as regiões. Em resposta ao desafio, tem havido a intensificação de pesquisas buscando amenizar o problema e de realização de campanhas de orientação aos produtores. Além disso, as empresas de semente vêm investindo em programas de melhoramento de milho, visando a seleção de genótipos resistentes aos enfezamentos. Diversos cultivares de milho com diferentes níveis de resistência aos enfezamentos já estão disponíveis no mercado. Porém, os enfezamentos continuam presentes e com possibilidade da ocorrência de surtos epidêmicos. As interações entre patógenos e hospedeiros são dinâmicas, sendo a adaptação de variantes genéticas desses agentes um risco eminente. Se possível, deve-se evitar o escalonamento da semeadura do milho em determinada localidade, ou em uma microrregião, e a permanência de milho voluntário durante a entressafra. Esses fatores certamente contribuem para aumento da população da cigarrinha e da incidência dos enfezamentos.

#### 4. CONCLUSÕES E IMPLICAÇÕES

- As estimativas de ocorrência de patógenos do enfezamento do milho em 2019 e 2020, na região Sul e Mato Grosso do Sul, indicam que não há prevalência de uma espécie de patógeno. A frequência relativa encontrada é de 37% de enfezamento pálido, 38% de enfezamento vermelho e 22% de amostras com ambos.
- A incidência de *Maize Bushy Stunt Phytoplasma* tem relação com a safra e o mês do plantio; há maior ocorrência em cultivos da segunda safra (fevereiro-julho) talvez por temperatura mais amena, consistente com a alegada observação deste tipo de enfezamento em épocas mais frias e regiões de maior altitude.
- Há maior incidência dos patógenos quando se cultiva milho seguido de milho, talvez pelo efeito da contínua existência de plantas hospedeiras na dinâmica populacional do inseto vetor e ocorrência do complexo de enfezamentos.
- Não se observou relação da precocidade do híbrido e do ano agrícola (2019 e 2020) com a incidência dos patógenos.
- As informações obtidas neste trabalho reforçam a importância de plantio de milho o mais cedo possível, dentro do ano agrícola, e a eliminação de plantas hospedeiras na entressafra. Na seleção e desenvolvimento de cultivares de milho, resistência ou tolerância devem ser consideradas para as duas espécies de mollicutes dado a ausência de prevalência de somente umas delas.

## REFERÊNCIAS

- ADAPAR. **Adapar e Embrapa orientam agricultores para correto manejo da cigarrinha do milho**. Disponível em: <<https://opresenterural.com.br/adapar-e-embrapa-orientam-agricultores-para-correto-manejo-da-cigarrinha-do-milho/>>. Acesso em: 22 maio. 2022.
- ALVES, E. **Enfezamentos Vermelho e Pálido em Milho**. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/blog/40/enfezamentos-vermelho-e-palido-em-milho>>. Acesso em: 16 ago. 2022.
- ALVES, E.; FORESTI, J. Manejo da cigarrinha (*Dalbulus maidis*) e dos enfezamentos do milho. **Revista Pioneer**, p. 27–32, 2017.
- AVILA, C. J. et al. A cigarrinha *Dalbulus maidis* e os enfezamentos do milho no Brasil. **Revista Plantio Direto**, n. 182, p. 18–25, 2021.
- CAMBARDELLA, C. A. et al. Field-Scale Variability of Soil Properties in Central Iowa Soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 58, n. 5, p. 1501–1511, 1994.
- CASTRO, E. **Sistema Caramuru. Campo e Negócio OnLine**. Disponível em: <<https://revistacampoenegocios.com.br/sistema-caramuru-2/>>. Acesso em: 18 ago. 2022.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira 2021/2022**. 7. ed. Brasília - DF: Acompan. da Safra Bras. Grãos 2021/2022, 2022.
- CONTINI, E. et al. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. **Brasília: Embrapa.(Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2)**, 2019.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. Amostragem de pragas da soja. Em: **Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga**. Brasília - DF: Embrapa Soja (CNPSo), 2012. p. 631–672.
- COTA, L. V. et al. Manejo da cigarrinha e enfezamentos na cultura do milho. 2017.
- EMBRAPA. **Enfezamento do milho aparece como problema nesta safra**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/21567441/enfezamento-do-milho-aparece-como-problema-nesta-safra>>. Acesso em: 18 maio. 2022.
- ESRI: ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE. **ArcGis Professional GIS for the desktop**. , 2016.
- GALDINO, T. V. DA S. et al. The role of the beetle *Hypocryphalus mangiferae* (Coleoptera: Curculionidae) in the spatiotemporal dynamics of mango wilt. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 3, p. 865–874, 2017.
- GALVÃO, S. R. **Enfezamentos do milho: incidência do fitoplasma e espiroplasma, dinâmica populacional, expressão de sintomas e caracterização molecular do fitoplasma com base no gene SecY**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2019.

- GOODMAN, M. M. História e origem do milho. Em: **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Paterniani, E.; Viégas, G. P. (Eds.). 2. ed. Campinas: Fundação Cargill., 1987. p. 3–38.
- HAMMOND, R. W.; BEDENDO, I. P. Molecular confirmation of *Maize rayado fino virus* as the Brazilian corn streak virus. **Scientia Agricola**, v. 62, p. 601–603, 2005.
- ISAAKS, E. H.; SRIVASTAVA, R. M. **An introduction to applied geostatistics**. New York: Oxford University, 1989.
- LI, J.; HEAP, A. D. A review of comparative studies of spatial interpolation methods in environmental sciences: Performance and impact factors. **Ecological Informatics**, v. 6, n. 3–4, p. 228–241, 2011.
- MADDEN, L. V.; NAULT, L. R. Differential pathogenicity of corn stunting mollicutes to leafhopper vectors in *Dalbulus* and *Baldulus* species. **Phytopathology**, v. 73, n. 12, p. 1608–1614, 1983.
- MANTOVANI, E. C. et al. **Cultivo do milho. Sistemas de Produção**.
- MASSOLA JÚNIOR, N. Enfezamentos vermelho e pálido: Doenças em milho causadas por mollicutes. **Seminário de Ciências Agrárias**, n. 22, p. 237, 2009.
- OLIVEIRA, C. M.; LOPES, J. R. S.; NAULT, L. R. Survival strategies of *Dalbulus maidis* during maize off-season in Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 147, n. 2, p. 141–153, 2013.
- OLIVEIRA, E. D. et al. *Maize bushy stunt phytoplasma* transmission by *Dalbulus maidis* is affected by spiroplasma acquisition and environmental conditions. p. 2, 2002a.
- OLIVEIRA, E. D. et al. Mollicutes e vírus em milho na safrinha e na safra de verão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 02, 2002b.
- OLIVEIRA, E. de et al. **Mudanças climáticas poderão favorecer doença causada por fitoplasma na cultura do milho**. Circ. Técnica, 126 ed. Sete Lagoas - MG: EMBRAPA, 2009.
- PALOMERA, V. et al. Is there any genetic variation among native Mexican and Argentinian populations of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae)? **Florida Entomologist**, v. 95, n. 1, p. 150–155, 2012.
- PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoramento do Milho. Em: **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 491–552.
- RIBEIRO, S. **Cultura do Milho no Brasil**. 1. ed. [s.l.] Revista Científica Semana Acadêmica, 2014. v. 1
- SABATO, E. O. Enfezamentos do milho. Em: **Doenças em Milho: Insetos-Vetores, Mollicutes e Vírus**. Brasília - DF: EMBRAPA, 2017. p. 11–24.
- SABATO, E. O. Enfezamentos e viroses no milho. Em: **Construindo Sistemas de Produção Sustentáveis e Rentáveis: Livro de Palestras**. Sete Lagoas - MG: Associação Brasileira de Milho e Sorgo., 2017. p. 196–219.

SABATO, E. O. **Manejo do risco de enfezamentos e da cigarrinha no milho**. Sete Lagoas - MG: Comun. Técnico 226, 2018.

SABATO, E. O.; LANDAU, E. C.; OLIVEIRA, C. M. **Recomendações para o manejo de doenças do milho disseminadas por insetos-vetores**. Sete Lagoas - MG: Circ. Técnica 205, 2014.

SCIARRETTA, A.; TREMATERRA, P. Geostatistical characterization of the spatial distribution of *Grapholita molesta* and *Anarsia lineatella* moths in an agricultural landscape. **Journal of Applied Entomology**, v. 130, n. 2, p. 73–83, 2006.

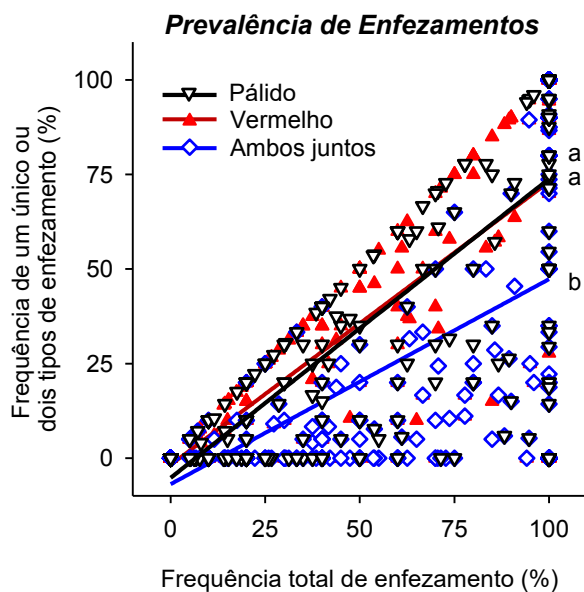
SOUTO, F. B. C.; JANDREY, D. B.; FORESTI, J. **Práticas de manejo para minimizar perdas por enfezamento em milho [WWW Document]**. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/blog/195/praticas-de-manejo-para-minimizar-perdas-por-enfezamento-em-milho>>. Acesso em: 1 dez. 2021.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Circ. Técnica 1 ed. Sete Lagoas - MG: EMBRAPA, 2015.

WAQUIL, J. M. **Cigarrinha-do-milho: vetor de mollicutes e vírus**. **Embrapa Milho e Sorgo**. Circular Técnica, n. 41 ed. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2004.

WEBSTER, R.; OLIVER, M. A. **Geostatistics for environmental scientists**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2007.

## TABELAS E FIGURAS



**Figura 1.** Frequência de ocorrência de patógenos dos enfezamentos do milho em plantas amostradas em locais (n = 328) Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Curvas com a mesma letra possuem coeficiente angular que não diferem entre si (teste *t*,  $p > 0,05$ , Tabela 1).

**Tabela 1.** Coeficientes angulares das curvas da Figura 1 e detalhes do teste *t* para determinar a prevalência dos enfezamentos.

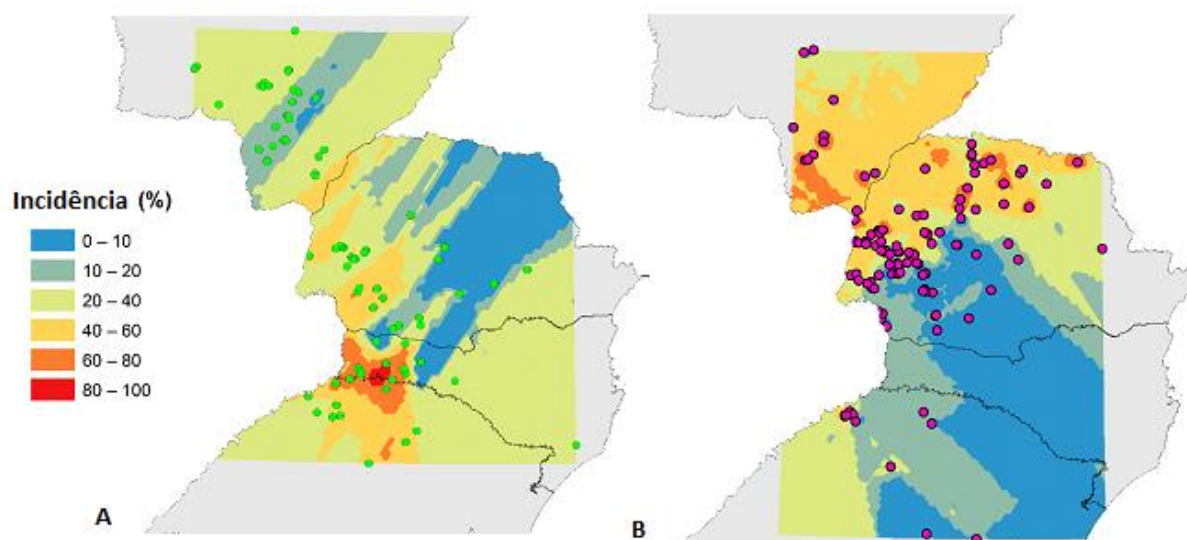
Tipo de Enfezamento	Inclinação <sup>1</sup> ( <i>b</i> ) ± EP	Coeficiente de correlação ( <i>r</i> )	<i>T</i>	<i>P</i>	Diferença de inclinação das curvas			
					Comparação	Estimativa ± EP	<i>t</i>	<i>P</i>
Pálido	0,79 ± 0,03	0,79	23,4	< 0,01	<i>Pálido vs Vermelho</i>	0,04 ± 0,07	0,58	0,56
Vermelho	0,75 ± 0,04	0,74	19,9	< 0,01	<i>Pálido vs Simultâneo</i>	0,25 ± 0,07	3,44	< 0,01
Simultâneo	0,54 ± 0,04	0,61	14,1	< 0,01	<i>Vermelho vs Simultâneo</i>	0,21 ± 0,08	2,71	0,01

EP, erro padrão. <sup>1</sup>Coeficiente angular da equação  $y = a + b x$ , onde *x* é a frequência total de enfezamentos e *y* é a frequência parcial de dado enfezamento.

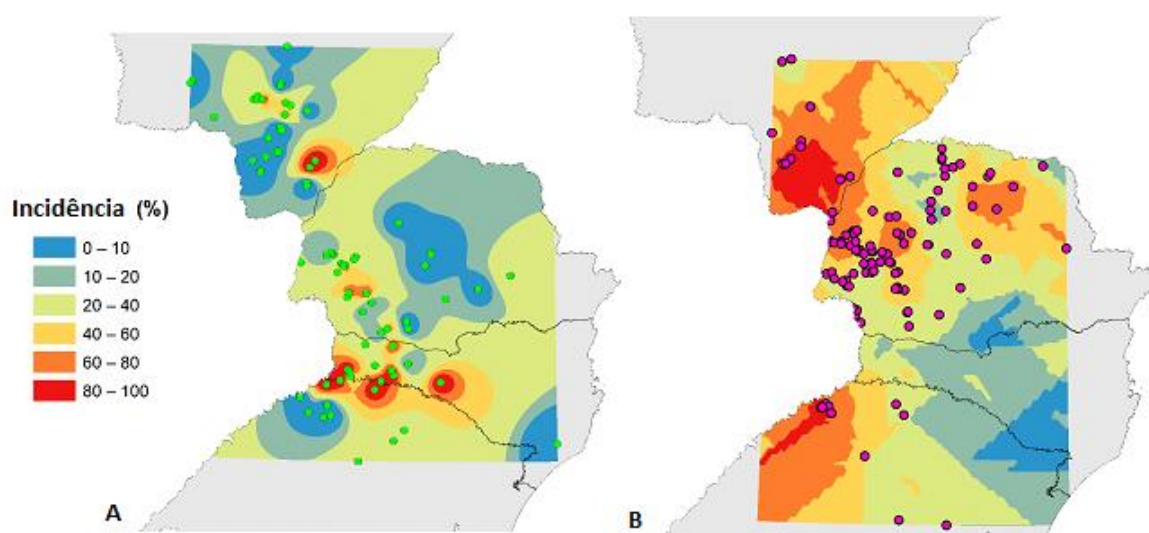
**Tabela 2.** Teste de efeitos fixos de fatores explicativos da ocorrência de patógenos dos enfezamentos do milho em estados da Região Sul e no Mato Grosso do Sul nas safras de 2019 e 2020.

Efeito	<i>gl num</i>	Enfezamento geral			Pálido			Vermelho			Ambos juntos		
		<i>gl den</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>gl den</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>gl den</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>gl den</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ano	1	257	1,4	0,24	246	0,55	0,46	241	0,43	0,52	262	1,11	0,29
Safra	2	236	7,86	<0,01	247	2,52	0,08	243	8,37	<0,01	258	3,20	0,04
Mês de plantio (Safra)	9	233	2,71	<0,01	250	1,73	0,08	238	4,07	<0,01	242	1,49	0,15
Precocidade do híbrido	4	52	1,55	0,20	73	1,22	0,31	75	1,37	0,25	76	0,72	0,58
Cultivo anterior	6	196	4,49	<0,01	211	4,04	<0,01	202	5	<0,01	217	4,81	<0,01

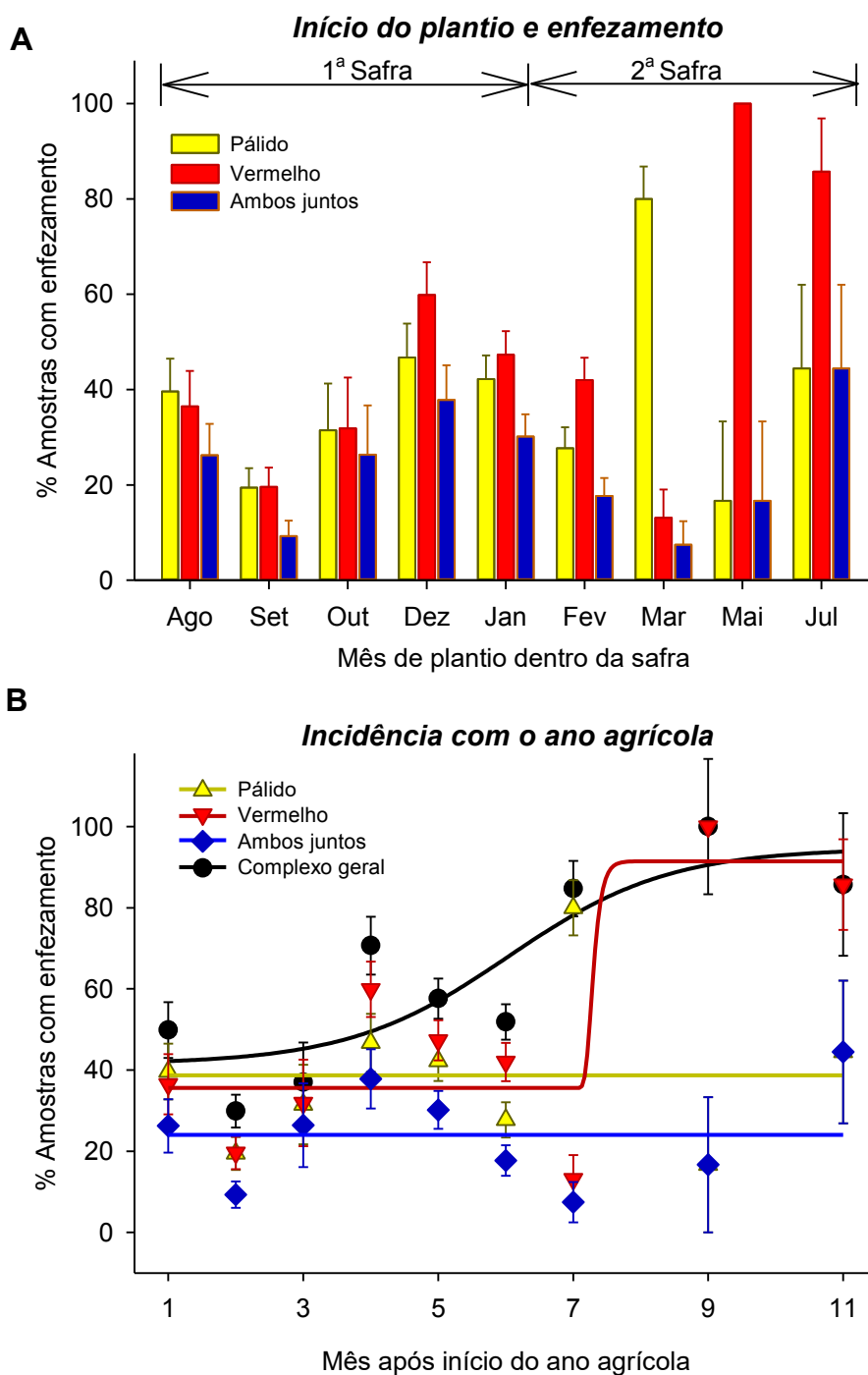
*gl num*, grau de liberdade do numerador; *gl den*, grau de liberdade do denominador.



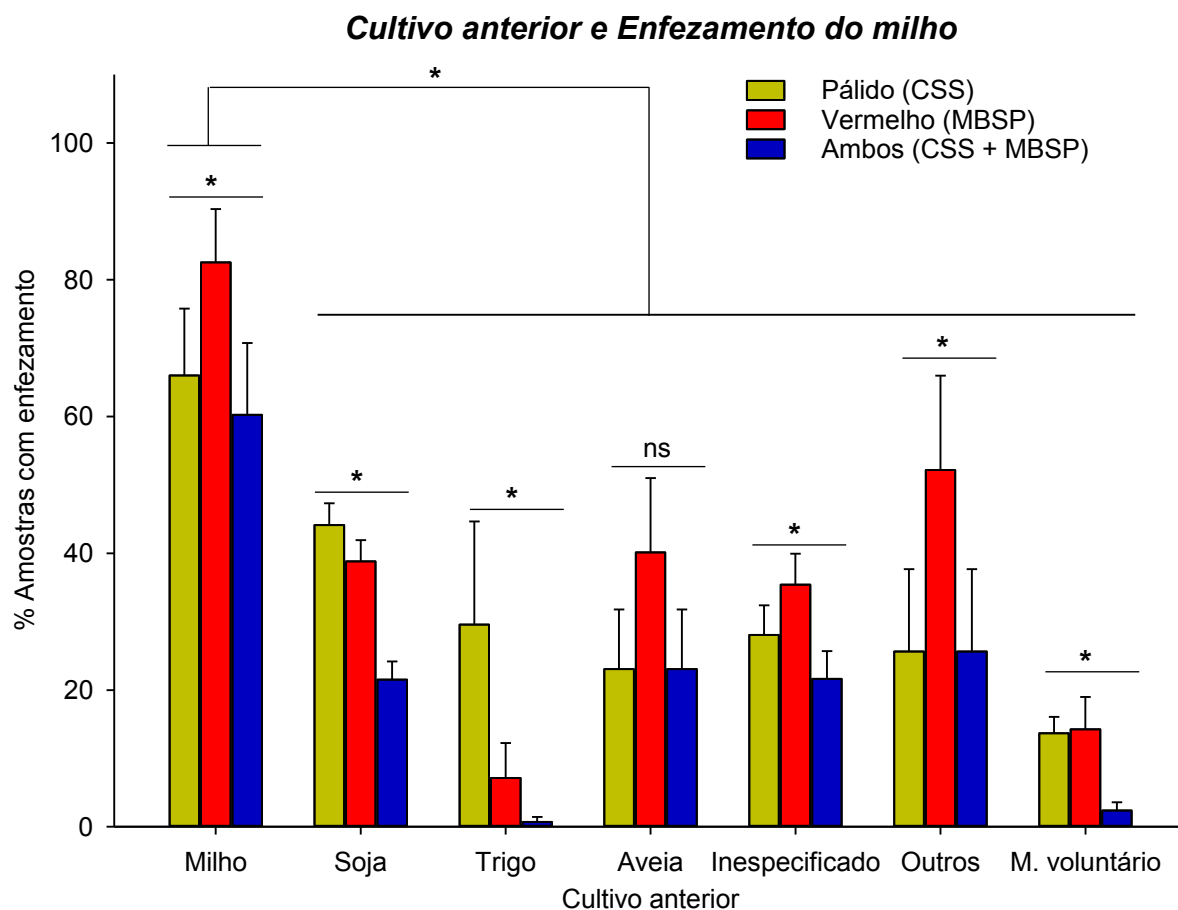
**Figura 2** Distribuição geográfica da incidência (%) de *Corn Stunt Spiroplasma* (patógeno do enfezamento pálido do milho) nos estados da Região Sul do Brasil. **A)** Primeira safra (safra verão). **B)** Segunda safra (safrinha). Os pontos no mapa indicam a localização onde foram obtidas as amostras.



**Figura 3.** Distribuição geográfica da incidência (%) de *Maize Bushy Stunt Phytoplasma* (patógeno do enfezamento vermelho do milho) nos estados da Região Sul do Brasil. **A)** Primeira safra (safra verão). **B)** Segunda safra (safrinha). Os pontos no mapa indicam a localização onde foram obtidas as amostras



**Figura 4.** Relação do mês do início dos cultivos no ano agrícola com a ocorrência de patógenos do complexo dos enfezamentos do milho. **A)** Visão geral da ocorrência dos patógenos de acordo com o mês de plantio dentro da 1ª e 2ª safras. **B)** Dinâmica da incidência dos tipos de enfezamentos ao longo do ano agrícola. Pelo efeito significativo dos meses dentro das safras ( $p > 0,05$ , Tabela 1), as proporções de cada tipo de enfezamento foram submetidas a análise de regressão não linear para descrever as tendências de mudança de incidência dos patógenos ao longo do ano agrícola.



**Figura 5.** Relação do cultivo anterior na área de amostragem com a ocorrência de patógenos do complexo dos enfezamentos do milho. Entre espécies de planta (para compará-las) ou em cada espécie de planta (para comparar tipos de enfezamento), asterisco indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ), e, ns, não significativa ( $p > 0,05$ ).

## ANEXO DE FIGURAS



**Figura A1.** Alta infestação da cigarrinha *Dalbulus maidis* e seu hábito de permanência no cartucho de plantas de milho. (A autora, 2021)



**Figura A2.** Planta de milho com características de enfezamento vermelho, causado pela transmissão de fitoplasma pela cigarrinha *Dalbulus maidis*. (A autora, 2022)



**Figura A3.** Planta de milho com características de enfezamento pálido, causado pela transmissão de espiroplasma por *Dalbulus maidis*. (A autora, 2021)