

RICARDO TREZZI CASA

**SOBREVIVÊNCIA DE *Stenocarpella maydis* E *Stenocarpella macrospora*
EM RESTOS CULTURAIS DE MILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, para obtenção do Título de “Doctor Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2000

RICARDO TREZZI CASA

**SOBREVIVÊNCIA DE *Stenocarpella maydis* E *Stenocarpella macrospora*
EM RESTOS CULTURAIS DE MILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, para obtenção do Título de “Doctor Scientiae”.

APROVADA: 13 de dezembro de 2000.

Prof. Dr. Laércio Zambolim
(Orientador)

Prof. Dr. Erlei Melo Reis
(Co-orientador)

Prof. Dr. Kiyoshi Matsuoka

Dr. Geraldo Martins Chaves

Prof. Dr. Francisco Xavier Ribeiro do Vale

Esta dissertação é dedicada a minha mãe Ignêz

AGRADECIMENTO

Ao professor Erlei, pela orientação, amizade e por grande parte de todo conhecimento profissional obtido até aqui.

Ao professor Laércio, pela orientação, amizade e confiança em meu trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro no período de estudo.

À Universidade de Passo Fundo, pela colaboração e oportunidade de trabalho.

Aos funcionários da UFV e UPF, em especial aos amigos Cinara, Naiara e Paulo, pelo apoio a mim dedicado.

Ao corpo docente, funcionários e colegas do curso de pós-graduação, pela amizade, vivência e ensinamentos transmitidos.

Aos participantes da banca examinadora, pela atenção dedicada.

À Melissa, pelo seu carinho, amor e incentivo.

Ao Rubens, Ulisses e Luciana, pela amizade, apoio e incentivo.

À minha irmã Marta, colega e amiga, pelo auxílio e dedicação prestado.

Aos amigos e familiares, pelo incentivo prestado.
A todos que, de forma direta ou indireta, me apoiaram.

BIOGRAFIA

RICARDO TREZZI CASA, nasceu em 3 de fevereiro de 1969, natural de Passo Fundo, RS, Brasil.

Engenheiro Agrônomo, CREA 81318-D, formado em dezembro de 1992 pela Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo, RS.

Foi bolsista de iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, durante os anos de 1990/93, no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, CNPT/EMBRAPA, sob a orientação do pesquisador Erlei Melo Reis.

Em março de 1995, ingressou no curso de mestrado do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, onde obteve o título de “Magister Scientiae” em fevereiro de 1997.

Atualmente, vem desenvolvendo trabalhos de pesquisa no controle de doenças do milho e de cereais de inverno, com ênfase em patologia de sementes e no estudo de práticas culturais, como, por exemplo, o plantio direto. Sua linha de pesquisa visa reduzir o inóculo dos patógenos em suas fontes.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Nomes comuns	5
2.2 Etiologia e taxonomia	6
2.3 Histórico e ocorrência	9
2.4 Importância econômica	11
2.5 Hospedeiros	13
2.6 Sintomatologia	13
2.7 Ciclo biológico de <i>Stenocarpella macrospora</i> e <i>S. maydis</i>	15
2.7.1 Fontes de inóculo	15
2.7.2 Disseminação	16
2.7.3 Inoculação e colonização	17
2.7.4 Sobrevivência	19
2.8 Medidas de controle	20
2.8.1 Resistência varietal	21
2.8.2 Rotação de culturas	23
2.8.3 Controle do patógeno associado à semente	25
2.8.4 Balanço adequado da fertilidade do solo	26
2.8.5 População de plantas	27

3. CAPÍTULO I - Decomposição dos restos culturais do milho e sobrevivência saprofítica de <i>Stenocarpella macrospora</i> e <i>Stenocarpella maydis</i>	28
Resumo	28
Introdução	30
Material e métodos	31
Resultados e discussão	36
Conclusões	51
Referências bibliográficas	52
4. CAPÍTULO II – Dispersão vertical e horizontal de conídios de <i>Stenocarpella macrospora</i> e <i>Stenocarpella maydis</i>	56
Resumo	56
Introdução	57
Material e métodos	58
Resultados e discussão	61
Conclusões	77
Referências bibliográficas	78
5. CAPÍTULO III - Efeito da temperatura e do regime luminoso no crescimento do micélio, germinação dos conídios e extrusão do cirro de <i>Stenocarpella macrospora</i> e <i>Stenocarpella maydis</i>	83
Resumo	83
Introdução	85
Material e métodos	86
Resultados e discussão	89
Conclusões	98
Referências bibliográficas	99
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
7. APÊNDICES	119

RESUMO

CASA, Ricardo Trezzi, D.S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro 2000. **Sobrevivência de *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* em restos culturais do milho.** Orientador: Laércio Zambolim. Co-orientador: Erlei Melo Reis. Conselheiro: Francisco Xavier Ribeiro do Vale.

Em ensaios conduzidos no campo e laboratório, estudaram-se as associações dos fungos *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* com os restos culturais do milho. No campo, demonstrou-se que a presença dos resíduos culturais de milho sobre a superfície do solo de uma estação de cultivo para outra, garante a presença e a viabilidade dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*. A decomposição da palha do milho mantida na superfície do solo foi de 78,5 % aos 29 meses de exposição no campo; além disto, a decomposição dos restos culturais incorporados ao solo é mais rápida do que mantidos sobre o solo. O número de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* capturados no ar foi inversamente proporcional à distância vertical e horizontal da fonte de inóculo, constituída de palha infectada. Os conídios foram capturados até altura de 2,0 m acima e distantes 120 m da fonte de inóculo. A maior quantidade de conídios capturados no ar ocorreu durante o dia, sendo os esporos coletados isoladamente ou agrupados em cirros, não necessitando estarem veiculados a gotículas d'água. Em laboratório, determinou-se que a faixa de temperatura de 23 a 28 °C proporcionou o maior crescimento do micélio de *S. maydis* e *S. macrospora*, tanto sob luz contínua como sob fotoperíodo de 12 h. O micélio dos fungos não cresceu à

temperatura inferior a 10 °C e superior a 40 °C. A faixa de temperatura de 26 a 33 °C propiciou a maior porcentagem de germinação dos conídios, sendo que ambas espécies germinaram mais rapidamente na presença de luz constante. Após 24 h de incubação os conídios de *S. macrospora* e *S. maydis* não germinaram nas temperaturas de 5 e 45 °C. A extrusão do cirro de conídios em colmos de milho foi maior na faixa térmica de 30 a 35 °C sob luz contínua. Este trabalho apresenta as bases científicas para elucidar por que as doenças causadas por fungos necrotróficos, como as espécies do gênero *Stenocarpella*, são mais severas em plantio direto. Evidenciou-se que a presença dos restos culturais infectados, de uma estação de cultivo para a outra, assegura a presença do inóculo na lavoura, e que em face das distâncias do transporte do inóculo, a rotação de culturas tem potencial para seu controle.

ABSTRACT

CASA, Ricardo Trezzi, D.S., Universidade Federal de Viçosa, December 2000. **Survival of the *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora* in maize straw** Adviser: Laércio Zambolim. Co-Adviser: Erlei Melo Reis. Committee Member: Francisco Xavier Ribeiro do Vale.

In experiments carried out under field and laboratory conditions, the association of *Stenocarpella maydis* and *S. macrospora* fungi with corn residues was studied. It was demonstrated in the field that the presence of corn residues at the soil surface from one growing season to the next ensures the presence of the inoculum of *S. maydis* and *S. macrospora*. Conidia of both fungi *S. maydis* e *S. macrospora* may keep viability in the period between corn growing seasons associated to residues at the soil surface. It was also determined that corn residue breaks down more rapidly when buried in the soil than kept at the soil surface; it was also shown that 78,5 % of residue weight was decomposed at 29 months after field exposure, at the soil surface. It was also verified that the number of conidia of *S. maydis* and *S. macrospora* collected in the air was inversely proportional to the vertical and horizontal distances from the inoculum source composed by naturally infected residue. Conida were collected up to 2.0 m high above and at a distance of 120 m far from the inoculum source. The highest number of conidia in the air were collected during the day period, being the spores individually collected or grouped in cirri, independently of the presence of water drops. In laboratory, the larger micelial growth occurred in the temperature range from 23 to 28 °C both for *S. maydis* and *S. macrospora* as well for continuous light and 12 h

photoperiod. Mycelium of both fungi did not grow in temperature lower than 10 °C and higher than 40 °C. The highest percentage of conidia germination occurred at the temperature range from 26 a 33 °C for both species and in the presence of light. After 24 h of incubation conidia of *S. macrospora* and *S. maydis* did not germinate in temperatures of 5 and 45 °C. Production of conidia cirri in corn stalks was higher in the temperature range from 30 to 35 °C under continuous light. This paper presents the scientific basis tp elucidate why diseases caused by necrotroph parasites such as the species of the genus *Stenocarpella* are more severe under no-till. Data are shown to support the principle that the presence of corn residues ensures the presence of inoculum in the farm and that the diseases may be controlled by crop rotation taking into consideration the distance of spore dispersal from the inoculum source.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo, sendo importante para a alimentação humana e animal. Tanto o produto como os subprodutos apresentam grande importância na balança comercial de vários países.

No período de 1995/96 a 1998/99, o Brasil cultivou uma área aproximada de 13,4 milhões de hectares, com uma produção média de 33,1 milhões de toneladas e rendimento médio de 2.583 Kg/ha. No Rio Grande do Sul a área colhida foi de 1,52 milhões de hectares, com produção média de 3,82 milhões de toneladas e produtividade média de 2.511 Kg/ha (Recomendações, 1999). Segundo Brandalitze (2000) o Brasil tem um consumo superior a 36 milhões de toneladas de grãos necessitando assim de importação do cereal. O bom preço pago pelo produto proporcionou um aumento da área de cultivo na safra 1999/00, apoiado principalmente pelo incremento da área cultivada com milho safrinha no estado do Paraná. No Rio grande do Sul, nos últimos anos, a avicultura e a suinocultura vem crescendo, demandando importações de 0,9 a 1,8 milhões de toneladas de grãos de milho nos anos de 1997 e 1998. De acordo com Pereira (2000) um dos fatores do aumento significativo das importações do cereal é o decréscimo na produtividade média de grãos das lavouras do estado do Rio Grande do Sul.

O potencial de rendimento da cultura pode ser comprometido pela fertilidade do solo, disponibilidade hídrica, população de plantas, potencial genético do cultivar, época de semeadura, práticas culturais e pelas doenças,

pragas e plantas daninhas (Saunders, 1930; Jugenheimer, 1976; Sandini & Fancelli, 2000).

As doenças do milho ocorrem em praticamente todos os locais onde o cereal é cultivado. Os fungos são os principais patógenos da cultura, podendo parasitar todos os órgãos da planta (Shurtleff, 1992). No Rio Grande do Sul, destacam-se, pela frequência de ocorrência e pelos danos causados, as doenças relacionadas com a germinação das sementes, emergência e estabelecimento de plântulas, podridões radiculares e da base do colmo e podridões da espiga (Casa *et al.*, 2000).

As estimativas de danos no milho, nos Estados Unidos, causados pelas doenças têm indicado valores de 2 a 7 %, segundo Ullstrup (1955) e 7 a 17 %, de acordo com Shurtleff (1980). Segundo Shurtleff (1992), nos Estados Unidos, são citados danos de 10 a 20 % devido às podridões do colmo. No Brasil, são poucos os trabalhos quantificando claramente os danos causados por doenças. Nazareno (1989), durante três safras agrícolas, no Estado do Paraná, relatou perdas de 26,4 % no rendimento de grãos por causa das podridões do colmo. Posteriormente, na Região Sul do Brasil, Denti *et al.* (1999), determinaram incidências de 4 a 72 % e danos variando de 0,67 a 50 %. Em geral a ocorrência e a intensidade das podridões do colmo e da espiga são maiores nas lavouras conduzidas em monocultura no plantio direto, especialmente sob intensa precipitação pluvial no período compreendido entre a fecundação e a colheita (Reis & Casa, 2000). No caso das podridões da espiga, além do dano direto, ocorre redução da qualidade do produto colhido, onde normalmente na comercialização dos grãos é descontado do preço oferecido um percentual correspondente a incidência de grãos ardidos (Reis & Casa, 1999; Casa *et al.*, 2000).

Os agentes causais de podridão de semente, morte de plântulas e podridão do colmo podem ser considerados os mais importantes na cultura do milho, porque interferem diretamente na população de plantas.

As podridões de sementes e a morte de plântulas, comumente causadas por fungos associados à semente ou presentes no solo, não são de ocorrência

generalizada, mas podem se constituir em problema importante em situações localizadas (Balmer & Pereira, 1987; Smith & White, 1988; Reis & Casa, 1996).

As podridões do colmo interferem no desenvolvimento normal da planta afetando suas funções, conseqüentemente ocasionando danos no rendimento e na qualidade dos grãos. O problema se agrava quando ocorre quebra da base do colmo da planta, dificultando a colheita mecanizada, deixando as espigas em contato com o solo, e favorecendo o seu apodrecimento (Koehler & Boewe, 1957; Shurtleff, 1992).

Os principais agentes causais das podridões do colmo são os fungos *Cephalosporium* sp., *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils., *Fusarium graminearum* Schwabe, *F. moniliforme* J. Sheld, *F. subglutinans* (Wollenweb. & Reinking) P.E. Nelson, T.A. Toussoun, and Marasas, *Stenocarpella macrospora* (Earle) Sutton e *S. maydis* (Berk.) Sutton (Balmer, 1980; Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996; White, 1999).

Como regra, alguns fungos causadores de podridões do colmo, são também responsáveis pelas podridões da espiga e, coincidentemente, os mais comuns em sementes (Casa, 1997; Pinto, 1998). As podridões da espiga afetam o rendimento e a qualidade de grãos, envolvendo o ataque direto dos fungos aos grãos que exibem sintomas da colonização; os grãos com essa sintomatologia são denominados de grãos ardidos. Esses grãos podem conter micotoxinas e fornecerem baixa energia para a alimentação animal e também causar micotoxicoses em animais (Shurtleff, 1992; Munkvold & Desjardins, 1997; Molin & Valentini, 1999).

Como medidas preferenciais no controle de doenças fúngicas do milho recomenda-se o emprego de variedades resistentes, o uso de sementes sadias, o tratamento de semente com fungicidas, a rotação de culturas, o balanço adequado na fertilidade do solo e evitar população elevada de plantas (Saunders, 1930; Balmer & Pereira, 1987; Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996). Preferencialmente, as lavouras produtoras de sementes de milho deveriam ser conduzidas sob rotação de culturas. O tratamento de sementes com fungicidas e doses eficientes previne que as sementes levem os fungos

necrotróficos para a lavoura; a rotação de culturas elimina ou reduz o inóculo na lavoura pela eliminação do substrato necessário a multiplicação dos fitopatógenos. As duas práticas usadas conjuntamente agem sobre o inóculo primário prevenindo a infecção das plantas hospedeiras. A população elevada de plantas determina maior competição por água e nutrientes, aliada a falta ou desequilíbrio de N e K pode contribuir para aumento da incidência de podridões do colmo, da espiga e, conseqüentemente, de grãos ardidados em milho.

Em relação aos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*, os danos específicos desses patógenos ainda não foram quantificadas no Brasil, existindo somente relatos de sua ocorrência (Johann, 1935; Ram *et al.*, 1973) e de sua importância (Balmer & Pereira, 1987; Reis & Casa, 1996; Casa *et al.*, 2000). As duas espécies parasitam exclusivamente plantas de milho (Sutton & Waterston, 1966a,b; Costa Neto, 1976) causando sintomas de podridão em colmo e espiga e mancha foliar. Apresentam como fonte de inóculo primário os restos culturais e as sementes infectadas (Ullstrup, 1964; McGee, 1988; Smith & White, 1988; Casa, 1997). A transmissão de *S. maydis* e de *S. macrospora* da semente para às plântulas é conhecida (McGee, 1988; Casa, 1997), bem como a erradicação destes pelo tratamento de semente com fungicidas em doses eficientes (Casa, 1997). A intensidade da doença é maior quando na lavoura são encontrados os restos culturais (Ullstrup, 1964), ou seja, quando se pratica a monocultura (Flett & Wehner, 1991; Reis & Casa, 1996); porém a determinação do período de sobrevivência destes fungos nos restos culturais, no Brasil, ainda não é conhecida. Além disto, a distância vertical e horizontal de transporte dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* a partir dos restos culturais também não foi ainda quantificada, sendo relatado apenas que as maiores intensidades da podridão do colmo e da espiga ocorrem próximas da fonte de inóculo (Ullstrup, 1964; Del Rio & Melara, 1991; Flett *et al.*, 1992). Outros detalhes, como fatores ambientais que influem na maturação do picnídio, liberação do cirro de conídios do ostíolo e germinação dos esporos também são escassos na literatura.

Devido a estes fatos o presente trabalho teve por objetivo, estudar a sobrevivência saprofítica dos fungos *S. macrospora* e *S. maydis* em restos

culturais de milho, com ênfase na determinação do período de tempo para decomposição completa dos resíduos culturais, bem como na quantificação da dispersão vertical e horizontal dos conídios desses patógenos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nomes comuns

Os nomes comuns dados a uma doença devem estar relacionados com o local de infecção no hospedeiro e com a presença e coloração dos sinais do patógeno e/ou sintomas da enfermidade de modo a serem úteis à diagnose. Como os agentes causais colonizam e exibem os sintomas principalmente em colmos e espigas de plantas de milho, em geral, a doença é denominada de podridão do colmo ou da espiga. É importante ressaltar que outras espécies de fungos também atacam colmos e espigas causando podridões.

No Brasil, quando os sintomas manifestam-se no colmo, a doença é comumente denominada de podridão do colmo causada por *Diplodia* (Balmer & Pereira, 1987; Pereira, 1997), podridão de diplodia ou podridão da base do colmo (Reis & Casa, 1996) e podridão de *Diplodia maydis* (Fernandes & Oliveira, 1997). Em espiga, a doença é denominada de podridões da espiga causada por *Diplodia* (Balmer & Pereira, 1987, Pereira, 1997) e podridão de diplodia ou podridão branca da espiga (Reis & Casa, 1996; Fernandes & Oliveira, 1997). O sintoma de mancha foliar causado por *Stenocarpella macrospora* tem sido denominado de mancha de *D. macrospora* (Fernandes & Oliveira, 1997) e mancha foliar de diplodia macrospora (Reis & Casa, 2000).

Em outros países, a doença recebe nomes comuns de podridões e mancha foliar de acordo com os sintomas nos órgãos da planta atacado, como: “*Diplodia* stalk rot” (“*Stenocarpella* stalk rot”), “*Diplodia* ear rot” (“*Stenocarpella* ear rot”), “Dry rot”, “White ear rot”, “*Diplodia* seedling blight”, “Diplodiosis” e “*Diplodia* macrospora leaf stripe” (Eddins, 1930; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979; Sutton, 1980; Committee on Standardization of Common Names For Plant Diseases, 1985; Smith & White, 1988; McGee, 1988; Shurtleff, 1992; White, 1999).

Nesse trabalho serão empregados os nomes comuns de podridão do colmo de diplodia, podridão branca da espiga e mancha foliar de diplodia.

2.2 Etiologia e taxonomia

Os agentes causais da podridão do colmo de diplodia, podridão branca da espiga e mancha foliar de diplodia apresentam, no campo, em seu ciclo biológico, somente a forma anamórfica (imperfeita ou assexuada).

Os fungos pertencem à subdivisão Deuteromycotina, classe Coelomycetes, ordem Sphaeropsidales, família Sphaeropsidaceae e ao gênero e espécies *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton [Sin. *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc.; *D. zae* (Schw.) Lev.] e *S. macrospora* (Earle) Sutton [Sin. *D. macrospora* Earle in Bull.] (Alexopoulos & Mims, 1979; Sutton, 1980; Menezes & Oliveira, 1993).

Sutton (1980), em revisão dos "Coelomycetes", propôs que as duas espécies *D. maydis* e *D. macrospora*, encontrado em colmos, sementes e folhas do milho, fossem incluídas no gênero *Stenocarpella* Syd., baseado na conidiogenese como uma característica taxonômica. Por outro lado, em 1985, na revista “Plant Disease”, foi publicado uma lista de Nomes Comuns de Doenças de Plantas (Committee on Standardization of Common Names For Plant Diseases, 1985), na qual o gênero *Diplodia* era preferido para identificar as espécies em discussão. Embora o gênero *Stenocarpella* não tenha sido empregado no Brasil, pesquisadores de outros países, como, por exemplo, da

África do Sul (Chambers, 1988; Flett & Wehner, 1991; Bensch, 1995) e dos Estados Unidos (Latterell & Rossi, 1983; Klapproth & Hawk, 1991; Morant *et al.*, 1993), adotam *Stenocarpella* para identificar as espécies *D. maydis* e *D. macrospora*. O gênero *Stenocarpella* parece também ter sido aceito em publicações da Sociedade Americana de Fitopatologia (American Phytopathological Society - APS), como verificado, recentemente, na terceira edição do compêndio de doenças do milho (White, 1999). Convém lembrar que na edição anterior do compêndio (Shurtleff, 1992) o gênero empregado era *Diplodia*, e White, autor da terceira edição, por sua vez já havia descrito o gênero *Diplodia* em um capítulo referente às doenças do milho (Smith & White, 1988). Considerando as informações da literatura consultada, verifica-se uma certa dificuldade em relação à classificação taxonômica dos agentes causais da podridão do colmo de diplodia, podridão branca da espiga e mancha foliar de diplodia. Parece que a única base científica é a revisão de Sutton (1980), e embora o autor não justifique claramente quais as características da conidiogênese levaram às espécies a serem incluídas num gênero distinto de *Diplodia*. Ninguém, ainda contestou o seu trabalho.

Nesse trabalho, será empregado o gênero *Stenocarpella* em virtude de seu uso em trabalhos de pesquisa recentemente publicados e da última edição do compêndio de doenças do milho publicado pela APS (White, 1999).

O fungo *S. maydis* apresenta picnídios subepidérmicos, globosos ou alongados, com coloração marrom-escuro a preta, paredes grossas, diâmetro de 150-300 μm e um ostíolo protuberante papilado. Os conidióforos são usualmente ausentes. Apresentam células conidiogênicas enteroblásticas, fialídicas, cilíndrica, formada nas células internas da parede do picnídio. Os conídios são pardos-oliva a pardos, cilíndrico, fusiforme, retos a ligeiramente curvados, medindo 15-34 x 5-8 μm , bicelulados, comumente com 1 septo (0-2) (Sutton & Waterston, 1966a; Sutton, 1980) (Apêndice A).

A espécie *S. macrospora* apresenta picnídio e conídios semelhantes aos descritos para *S. maydis*, porém seus esporos são 2-3 vezes maiores, medindo

44-82 x 7,5-11,5 µm e apresentando 1-2 septos (1-3) (Sutton & Waterston, 1966b; Sutton, 1980) (Apêndice A).

As duas espécies podem ser distinguidas uma da outra com base na forma, tamanho, número de células, cor dos esporos e coloração das colônias em meio de cultura. Casa (1997), relata que os fungos, em meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA), apresentam crescimento de micélio rápido, com micélio aéreo e cotonoso, cobrindo a placa de Petri de 90 mm de diâmetro em 5-6 dias. Com aproximadamente 10 dias, as colônias das duas espécies apresentam cor branca. Posteriormente, a coloração superficial de *S. maydis* altera e com aproximadamente 20 dias a colônia apresenta cor salmão-escuro, com o reverso da colônia de cor bege a pardo-claro, podendo escurecer. Por outro lado, *S. macrospora* permanece com a coloração superficial branca e o reverso da colônia de cor bege. Mário & Reis (1998), determinaram em testes de patologia de semente de milho, plaqueando-se as sementes em papel filtro, que 15 dias após a incubação, as colônias de *S. macrospora* permanecem brancas à bege, enquanto que as de *S. maydis*, originalmente brancas, tornam-se pardo-escuro. A esporulação ocorre principalmente em pedaços de folha de milho agregados ao meio de cultura e nos bordos das placas, apresentando picnídios imersos ou superficialmente embebidos no meio de cultura ou nas folhas (Latterell & Rossi, 1983; Casa, 1997). Morant *et al.* (1993), sugere a adição de biotina ao meio de cultura para estimular a esporulação de *S. macrospora*.

Hoppe (1936), identificando fungos envolvidos com podridão de espiga, observou em cultura a reação antagônica inter e intraespecífica de *S. maydis* e *S. macrospora*, indicada pela reação de antagonismo do crescimento micelial dos fungos, visível pelo escurecimento do micélio e meio de cultura quando as hifas de cada colônia juntavam-se. O fenômeno de antagonismo intraespecífico é infreqüentemente relatado em fungos. Embora, não relatado, Casa (1997) durante análise de patologia de semente de milho, também observou antagonismo inter e intraespecífico.

Outra espécie, classificada como *D. frumenti* Ell. & Ev., também pode incitar podridão no colmo e na espiga, porém em menor freqüência. Salienta-se

que o gênero *Stenocarpella* contém duas espécies, *S. maydis* e *S. macrospora*, e, portanto, a espécie *D. frumenti* continua pertencendo ao gênero *Diplodia* (Sutton, 1980; White, 1999).

2.3 Histórico e ocorrência

O fungo *D. maydis* foi descrito pela primeira vez em 1884 (Saccardo, 1944), nos Estados Unidos, e desde então foi relatado nos cinco continentes (Sutton & Waterston, 1966a). A espécie *D. macrospora* foi relatada pela primeira vez sobre colmos de milho no ano de 1896, em Auburn, Alabama, Estados Unidos (Earle, 1897). A distribuição geográfica de *S. macrospora* parece ser restrita a regiões com clima tropical a subtropical, em áreas mais quentes e úmidas (Sutton & Waterston, 1966b).

Eddins (1930), avaliando a frequência das espécies de *Diplodia* em 618 plantas de milho de diferentes localidades do estado da Flórida, Estados Unidos, observou, em exame microscópico dos conídios do fungo, que 80,3 % dos colmos estavam infectados por *S. maydis*, 16,5 %, com *S. macrospora* e 3,2 %, com *D. frumenti*. Ocasionalmente, alguns colmos apresentaram os picnídios de duas espécies de *Diplodia* e em alguns poucos casos, a presença das três espécies.

Koehler & Boewe (1957), examinando colmos de milho infectados durante os anos de 1946, 47 e 48, no estado de Illinois, Estados Unidos, verificaram que a percentagem média de infecção para *S. maydis* e *Gibberella zeae* (Schw.) Petch., foi de 31 % e 25,8 %, respectivamente.

Em 1959, novamente no estado de Illinois, Hooker & White (1976), relataram que o fungo *S. maydis* foi encontrado em 86,3 % dos campos avaliados, mas em 1975, somente 5,0 % das lavouras apresentavam o patógeno. O declínio de *S. maydis* foi atribuído à especificidade do fungo ao hospedeiro, ao melhoramento genético e aos produtores de semente. No entanto, Anderson & White (1987), relataram aumento da incidência de lavouras com *S. maydis* causando podridão do colmo, com valores de 38,5 e 11,1 % dos campos amostrados, respectivamente, para os anos de 1982 e 1983.

Na África do Sul, o fungo *S. macrospora* foi relatado pela primeira vez por Marasas & Van Der Westhuizen (1979), causando mancha foliar e podridão da espiga. Atualmente, é uma das principais doenças da cultura do milho naquele país (Flett & Wehner, 1991; Bensch, 1995).

Em 1980, *S. macrospora* foi relatado pela primeira vez na Nicarágua, causando mancha foliar (Llano & Schieber, 1980).

Macdonald & Chapman (1997), detectaram a presença de *S. maydis* e *S. macrospora* em número significativo de amostras de sementes de milho obtidas de países da América Central, África e Ásia.

No Brasil, a ocorrência de *S. macrospora* foi relatada pela primeira vez por Johann (1935), no estado de São Paulo, causando podridão em sementes. Porém, os sintomas de mancha foliar somente foram relatados em 1973, na Bahia, realizando-se, também, o teste de patogenicidade e a descrição morfológica do fungo (Ram *et al.*, 1973). Apesar, da existência de inúmeros trabalhos sobre *S. maydis*, no Brasil, a prova de patogenicidade e a mensuração das estruturas reprodutivas foi realizada recentemente (Casa, 1997). Ito *et al.* (1979) citaram pela primeira vez, no Brasil, a presença de *D. frumenti* causando podridão em espigas.

Denti (2000) avaliando o efeito da monocultura e da rotação de culturas na incidência e nos danos causados pelas podridões do colmo, safras 1997/98 e 1998/99, relatou que os *S. maydis* e *S. macrospora* foram, na ordem de incidência, o segundo e o quarto fungo isolado das plantas com sintomas de podridão do colmo.

Morello *et al.* (1994), na safra 93/94, no estado de Tocantins, examinando 42 cultivares de híbridos de ciclo normal, observaram que 15,9 % das espigas de milho apresentavam sintomas de podridão, e 75,5 % estavam sendo atacadas por *Fusarium* sp. e 19,1 % por *Stenocarpella* sp.

Em teste de patologia de grãos e de sementes de milho, *S. maydis* parece ser a espécie mais frequentemente isolada e identificada (Oliveira & Mello, 1986; Reis *et al.*, 1995; Pinto, 1998). Possivelmente, *S. macrospora* deveria estar presente, porém, deve ter sido tratada como *S. maydis*. Atualmente, o fungo *S.*

macrospora tem sido freqüentemente detectado em sementes, principalmente, devido ao aumento na ocorrência e intensidade da doença nas lavouras da Região Sul do Brasil (Casa *et al.*, 2000) e pela disponibilidade de metodologia na identificação do fungo em análise de patologia de semente (Casa, 1997; Mário & Reis, 1998).

2.4 Importância econômica

Segundo Nutter *et al.* (1993), produção é o produto mensurável de valor econômico de uma cultura; dano é qualquer redução na quantidade e qualidade da produção; e perda é a redução em retorno financeiro por unidade de área devido à ação de organismos nocivos. Na Região Sul do Brasil entre as doenças destacam-se pela ocorrência e pelos danos causados, aquelas relacionadas com a germinação de sementes, emergência e estabelecimento de plântulas, podridões radiculares e da base do colmo, podridões da espiga e doenças foliares causadas por fungos (Casa *et al.*, 2000; Reis & Casa, 2000)

Quando ocorre a podridão de semente ou morte da plântula, a população de plantas da cultura, um fator de produção importante, é diretamente atingida (Büll & Cantarella, 1993; Casa *et al.*, 2000). O efeito negativo de *S. maydis* e *S. macrospora* sobre a germinação de sementes (Rheeder *et al.* (1990), indica que os fungos atacam e matam o embrião (Clayton, 1927; Casa, 1997). Nos casos onde a semente germina e a plântula emerge infectada o vigor das plantas sobreviventes é comprometido.

As podridões do colmo são consideradas as doenças mais importantes na cultura do milho, ocorrem em todas as lavouras, todas as safras de cultivo, com incidência e severidade variada. Nos Estados Unidos são citados por Shurtleff (1992) danos de 10 a 20 % devido às podridões do colmo. Hooker & Britton (1962), avaliando o efeito das podridões do colmo em Illinois, Estados Unidos, estimaram perda anual no valor de US\$ 70,625,000.00 No Brasil, Nazareno (1989), detectou incidência de 15 a 85 % e danos no rendimento de grãos de 12 a

40 %. Posteriormente, Denti *et al.* (1999), determinaram incidências de 4 a 72 % com danos variando de 0,67 a 50 %. A podridão do colmo interfere no desenvolvimento normal da planta, afetando suas funções, ocasionando quebra da base do colmo, acamamento e morte prematura da planta (Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996; White, 1999). O dano causado pela morte prematura da planta, no final do ciclo da cultura, reflete no processo de enchimento de grãos. Quando ocorre acamamento, as espigas apresentam menor peso e algumas deixam de ser colhidas mecanicamente, neste caso, os danos são atribuídos também à maior demanda de tempo requerido na colheita. Outro tipo de dano ocorre quando as espigas das plantas acamadas entram em contato com o solo, resultando no comprometimento da qualidade do grão. Durante três anos Michaelson & Christensen (1953) determinaram a redução do rendimento de milho devido à podridão do colmo, chegando a danos de 9,7 % para *S. maydis* e de 6,8 % para *G. zea*. Wilcoxson (1962), avaliando as podridões do colmo em 16 híbridos comerciais, verificou dano de até 17 %, sendo mais severo quando a inoculação das plantas ocorreu 9-10 semanas antes da colheita. Redução de 5 % no rendimento de grãos foi obtido a partir de inoculações no colmo com *S. maydis* (Singh & Sharma, 1974; Natti & White, 1981).

A podridão branca da espiga ocorre com maior frequência na Região Sul do Brasil, com danos na redução da produtividade e na qualidade dos grãos colhidos (Reis & Casa, 1996; 1999). Muitos fungos causadores de podridão da espiga produzem micotoxinas que podem afetar também o valor nutricional da ração e econômico do grão. Shurtleff (1992) e White (1999), não mencionam *Stenocarpella* como produtor de micotoxinas. No entanto, Cutler *et al.* (1980) relata uma toxina denominada diplodiol produzida por *S. macrospora*, enquanto que Williams *et al.* (1992) descreve a ocorrência de uma doença chamada diplodiose, produzida por *S. maydis*, em patos jovens, ratos, bovinos e ovelhas, causada por uma toxina ainda não identificada.

A mancha foliar de diplodia tem sido detectada com maior frequência e intensidade nas lavouras de milho conduzidas em monocultura. Além de causar dano pela redução da área foliar da planta as lesões foliares têm contribuído para

produção de inóculo para infecção dos colmos e da base da espiga (Reis & Casa, 2000).

No Brasil, ainda não foram quantificados os danos e as perdas causadas exclusivamente por *S. maydis* e *S. macrospora*. Sabe-se, porém que esses fungos tem contribuído para a produção de grãos ardidos.

2.5 Hospedeiros

O gênero *Diplodia* apresenta muitas espécies, algumas saprófitas e outras parasitas facultativas, as quais podem causar doenças em espécies agrícolas e florestais (Nemec, 1992).

As duas espécies identificadas como *S. maydis* e *S. macrospora* parasitam exclusivamente plantas de milho (Sutton & Waterston, 1964a,b; White, 1999). A espécie *S. maydis* também foi encontrada em bambú (*Arundinaria* sp.) (Sutton & Waterston, 1966a; Sutton, 1980).

Segundo Costa Neto (1976), o milho é a única gramínea no Estado do Rio Grande do Sul infectada por essas duas espécies.

Do exposto pode-se concluir que o único hospedeiro destes fungos deve ser o milho.

2.6 Sintomatologia

Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* parasitam plantas de milho causando podridão de sementes, morte de plântulas, podridão de raízes, do colmo e da espiga e mancha foliar (Eddins 1930; Ullstrup, 1955; Smith & White, 1988; Reis & Casa, 1996; White, 1999).

A podridão de semente, a morte de plântulas e a podridão radicular ocorrem em menor frequência, sendo encontradas nas fases de germinação, emergência e estabelecimento das plantas, na lavoura, quando as sementes apresentam elevada incidência dos patógenos. A podridão de semente normalmente ocorre devido a colonização do fungo no embrião da semente (McGee, 1988; Casa, 1997).

Os sintomas mais comuns são a podridão do colmo e a podridão branca da espiga (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996). Os sintomas secundários manifestam-se várias semanas após a polinização. As folhas das plantas infectadas murcham, tornando-se secas e verde-acinzentada, semelhante ao dano causado por geada. Os entre-nós basais das plantas apresentam coloração parda, ocorre a desintegração da medula do colmo, deixando apenas os feixes vasculares intactos. Plantas severamente atacadas podem morrer subitamente. Em colmos severamente afetados próximo a colheita da planta pode-se visualizar a presença dos picnídios, subepidérmicos, pequenos, pardo-negros, agrupados próximo aos tecidos dos nós. Os sintomas da podridão branca iniciam-se, principalmente, na base da espiga, logo após a fecundação. As brácteas da espiga tornam-se despigmentadas e de coloração palha. Quando a infecção ocorre duas semanas após a polinização, toda a espiga torna-se podre, apresentando coloração pardo-cinza a esbranquiçada, enrugada e leve, com as palhas internas fortemente aderidas umas as outras ou aos grãos, devido ao crescimento do micélio do fungo. Os picnídios negros podem formar-se sobre a palha, brácteas florais, sabugo e grãos. Os grãos infectados apresentam cor cinza fosco a marrom. As espigas infectadas no final da estação de crescimento não mostram sintomas externos, e quando são despalhadas e os grãos assintomáticos removidos, o micélio branco pode ser visto crescendo entre os grãos. Alguns isolados de *S. maydis* induzem a viviparidade, ou seja, a germinação prematura dos grãos. Também tem se verificado que as plantas com podridão do colmo normalmente apresentam as espigas com a ponta voltada para baixo.

Os sintomas de mancha foliar de diplodia são característicos da espécie *S. macrospora* (Ram *et al.*, 1973; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979; Latterell

& Rossi, 1983). As lesões foliares aparecem nos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, na forma de pequenas estrias avermelhadas ou pardas, rodeadas com halo amarelo característico. Mais tarde as lesões tornam-se pardas e, freqüentemente, estendem-se no sentido do comprimento total da folha, podendo formar áreas de tecido vegetal necrosado dilacerado. Sobre o tecido necrosado, em ambos lados da folha, são observados pequenos pontos negros, subepidérmicos, isolados ou agrupados, constituídos pelos picnídios do fungo. Sob clima úmido e quente, com o auxílio de lupa de mão, podem ser visualizados os cirros longos extrudando do ostíolo do picnídio.

2.7 Ciclo biológico de *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*

2.7.1 Fontes de inóculo

Os fungos *S. macrospora* e *S. maydis* são considerados agentes necrotróficos, apresentando fase parasitária na planta viva e fase saprofítica nos restos culturais. Dessa maneira, os patógenos são encontrados sobrevivendo fora do período de cultivo como micélio no interior das sementes (McGee, 1988; Casa, 1997) e como conídio em picnídio presente na coroa, colmos, palha da espiga, sabugo e grãos, os quais permanecem na lavoura após a colheita (Smith & White, 1988; Shurtlef, 1992; Reis & Casa, 1996).

As sementes infectadas constituem importante fonte de inóculo primário podendo causar podridão de semente, morte de plântulas e podridão de raízes. McGee (1988), estudando as doenças do milho e sua relação com as sementes, descreveu que *S. maydis*, por ser veiculado à semente, pode ser transmitido à plântula. Segundo Casa (1997), *S. macrospora* também pode ser transmitido à plântula. No entanto, a taxa de transmissão desses fungos ainda não foi quantificada (Casa *et al.*, 1998b). De modo geral, a transmissão é o processo no qual ocorre a transferência e o estabelecimento do patógeno à plântula, podendo

ser sintomaticamente localizado (Menten, 1991). Casa *et al.* (1998b), relataram que a passagem do fungo da semente, via mesocótilo, alcançando a coroa, raízes e finalmente a base do colmo é um processo lento que quase coincide com o ciclo da cultura. A quantificação da transmissão é fundamental em lavouras onde a cultura nunca foi implantada ou naquelas cultivadas em rotação de culturas, servindo como indicativo do potencial de inóculo da semente no desenvolvimento inicial de epidemias.

Os resíduos culturais de milho infectados por *S. maydis* e *S. macrospora* que permanecem na superfície do solo de uma estação de cultivo para a outra são considerados a principal fonte de inóculo primário para as podridões do colmo e da espiga e para mancha foliar de diplodia (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996). Na palha, os fungos sobrevivem formando picnídios, produzindo e liberando cirros de conídios, que constituem o inóculo primário para as plantas do novo cultivo. Ullstrup (1964) verificou durante os anos de 1962 e 1963, em Indiana, Estados Unidos, duas epifitias da podridão branca da espiga do milho, causada por *S. maydis*, limitadas em extensão com uma redução na intensidade da doença a partir da fonte de inóculo, constituída de palha infectada dos anos anteriores. Flett *et al.*, 1998, na África do Sul, relataram uma relação linear positiva entre a incidência da podridão branca da espiga e a quantidade de resíduo na superfície do solo.

Uma possível fonte de inóculo alternativa seria os hospedeiros secundários. Entretanto, segundo a literatura consultada, somente as plantas de bambú seriam parasitadas por *S. maydis*. Como a população dessa planta é muito restrita, limitando-se a pequenos bosques em determinadas regiões, provavelmente essas tenham pouca importância como fonte de inóculo.

Scott (1993) e Nemeč (1992) consideram *S. maydis* e *S. macrospora* como fungos de solo, tendo como critério a sobrevivência saprofítica nos restos culturais. Esses autores não consideram a necessidade de estruturas especiais de descanso ou a probabilidade de sobreviverem como conídios livres, como critério para incluir as duas espécies como fungo de solo.

2.7.2 Disseminação

A semente infectada é um dos principais veículos de disseminação de *S. maydis* e *S. macrospora* (McGee, 1988; Shurtleff, 1992; Casa, 1997), sendo responsável pela introdução dos fungos em novas áreas de cultivo, mesmo distantes de seu local de produção, como detectado pelo serviço de quarentena do Japão em sementes importadas dos Estados Unidos (Dai *et al.*, 1987). Macdonald & Chapman (1997) analisando amostras de sementes de diferentes países detectaram com frequência os fungos *S. maydis* e *S. macrospora*. A associação dos patógenos às sementes garante acesso direto do parasita à fonte nutricional por ocasião da germinação das sementes e emergência das plântulas.

Nos restos culturais infectados, sob clima úmido e quente, a liberação do inóculo é mais intensa, quando os conídios são exsudados dos picnídios, formando cirros longos que são disseminados pelos respingos de chuva, pelo vento e provavelmente pelos insetos (Saunders, 1930; Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992).

A distância do transporte dos conídios de *Stenocarpella* pelo vento, ainda não foi devidamente quantificada, relatando-se apenas que as maiores intensidades da podridão do colmo e da espiga ocorreram naquelas situações onde as plantas se encontravam próximas da fonte de inóculo (Ullstrup, 1964; Flett *et al.*, 1992). Ullstrup (1964) relatou incidência de 49 a 61 % de podridão da espiga, causada por *S. maydis*, em lavoura localizada ao lado da fonte de inóculo, com redução da incidência abaixo de 1 % para plantas a menos de 16 m de distância da fonte de inóculo. Del Rio & Melara (1991), relataram redução de 80 % na incidência de podridão da espiga, causada por *S. maydis*, em plantas distantes 20 m da fonte de inóculo constituída por palha infectada. Mário *et al.* (1998), demonstraram que o inóculo de *S. maydis* e *S. macrospora* produzido nos restos culturais sobre o solo e dispersado pelo vento, relacionaram-se com a incidência dos fungos na semente colhida.

2.7.3 Inoculação e colonização

Considera-se que a podridão de semente e a morte de plântulas causada por *Stenocarpella* spp. tenham às sementes como a sua principal fonte de inóculo (McGee, 1988; Rheeder *et al.*, 1990; Reis & Casa, 1996; Casa, 1997). Uma vez no solo, a semente é hidratada, ao entrar em contato com a água do solo. Nesta ocasião, o micélio do fungo, que se encontra no endosperma ou no embrião, reassume sua atividade vital e passa a crescer do interior à superfície da semente. Ao crescer sobre a semente o fungo acaba alcançando as raízes e o coleóptilo das plantas. Pela colonização do coleóptilo atinge a superfície do solo.

A podridão da base do colmo, a partir do inóculo presente nas sementes infectadas (McNew, 1937; Casa, 1997) ou a partir das raízes infectadas por inóculo do solo (Craig & Hooker, 1961), fica claro que a infecção teve origem nos órgãos abaixo do nível do solo. O fungo também pode penetrar próximo à coroa ou pelos nós (Saunders, 1930), causando podridão do colmo.

De modo geral, nesse patossistema, o processo mais freqüente de infecção dos colmos, ocorre com inóculo proveniente dos resíduos culturais. A velocidade de colonização de *S. maydis* em colmos inoculados é maior 1-3 semanas após a antese (Hooker, 1957), sendo inibida em tecidos com células vivas (Pappelis & Smith, 1963) predominantes nos entre-nós dos colmos antes da floração. Chambers (1988), demonstrou não haver diferença significativa entre a podridão medular do colmo resultando de inoculações na metade do período de polinização e 18 dias após. Segundo Latterell & Rossi (1983) *S. macrospora* coloniza mais facilmente colmos e espigas jovens, no entanto, para *S. maydis* a infecção é maior algumas semanas após a polinização.

Shurtleff *et al.* (1976) descreveram que normalmente a podridão branca da espiga ocorre a partir de esporos disseminados pelo vento, que ao germinarem no tecido do hospedeiro, emitem o tubo germinativo, penetrando diretamente a palha da espiga. Mário *et al.* (1998), determinaram a infecção de espigas no campo com esporos de *S. maydis* e *S. macrospora* dispersados pelo vento a partir da palha infectada. A infecção natural ocorre principalmente no período de duas a três semanas após a polinização, com clima úmido e temperatura de 28-30 °C

(Shurtleff, 1992), mesmo sob inoculação artificial (Ullstrup, 1949). Bensch *et al.* (1992), determinaram que a suspensão de conídios de *S. maydis* inoculada no colmo atrás da espiga, no período de polinização, resulta na maior incidência da podridão da espiga. Por outro lado, Klapproth & Hawk (1991) obtiveram maior nível de infecção com injeção da suspensão de esporos de *S. maydis* dentro da espiga. Bensch (1995), posteriormente determinou que a colonização do fungo na base da espiga, com posterior ramificação do micélio para a ponta da mesma, ocorreu pela inoculação dos conídios de *S. maydis* entre a bainha foliar e o colmo. Provavelmente, sob condições de campo, os esporos de *S. macrospora* produzido sobre as lesões foliares são transportados pela água até a bainha foliar, posteriormente germinam e iniciam a infecção da base da espiga.

O modo de penetração e colonização dos tecidos do colmo e da bainha foliar do milho por *S. maydis* mostrou que os conídios do fungo germinam sobre todos os tecidos da planta após 5 h de incubação a 30 °C. A penetração da hifa do fungo resultou na colonização inter e intracelular dos tecidos. A colonização foi acompanhada pela degeneração das paredes da célula, sugerindo que a colonização do hospedeiro foi facilitada pela atividade de enzimas (Bensch & Van Staden, 1992).

Outras condições predisponentes à infecção de *Stenocarpella* e que podem alterar a suscetibilidade do híbrido incluem alto nível de N e baixo de K, alta densidade de plantas e redução da área foliar devido a outras doenças, a granizo ou danos por insetos (Dodd, 1980; Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992).

2.7.4 Sobrevivência

O armazenamento da semente infectada garante a sobrevivência do patógeno até o momento da sementeira, quando recebe os estímulos do ambiente para iniciar o processo de germinação. Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* sobrevivem principalmente na forma de micélio no endosperma e no embrião das sementes de milho (McGee, 1988). Casa *et al.* (1998a), relatou uma

freqüência média de 18,5 e 21,4 % de *Stenocarpella* spp. em sementes de milho produzidas em lavouras do sul e do sudeste do Brasil, safra 94/95 e 95/96, respectivamente, tratadas comercialmente com fungicidas.

Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* também sobrevivem saprofiticamente na resteva de milho, colonizando os tecidos celulares e formando picnídios subepidérmicos (Sutton & Waterston, 1966a, b; Smith & White, 1988).

No sistema plantio direto os restos culturais do milho são deixados na sua totalidade sobre a superfície do solo. O posicionamento da palha sobre o solo torna sua decomposição mais lenta, o que aumenta o período de sobrevivência dos patógenos necrotróficos, durante a fase saprofítica. Dessa maneira, o inóculo encontra-se num posicionamento ideal para a esporulação, liberação, dispersão e inoculação. Por isso, a intensidade das doenças no sistema plantio direto é maior quando a cultura do milho emerge sob monocultura, isto é, quando se realiza a semeadura do milho onde estão presentes seus restos culturais infectados (Mora & Moreno, 1984; Flett & Wehner, 1991; Casa *et al.*, 2000).

O desenvolvimento e o período de sobrevivência de picnídios de *S. maydis* são maiores nos restos culturais que permanecem na superfície do solo que naqueles enterrados (Flett *et al.*, 1992). Os autores verificaram 11 meses após a colheita a produção de 90,6 e 37,9 picnídios/cm² de palha e 39,5 e 24,3 % de esporos germinados, respectivamente, para os restos culturais remanescentes na superfície do solo e enterrados. Na literatura consultada não se encontrou relato sobre o período de sobrevivência e a viabilidade de *S. macrospora* associado aos restos culturais do milho.

Pouco se conhece a respeito da possibilidade de *S. maydis* e *S. macrospora* sobreviverem como conídios ou clamidosporos livres no solo (Reis & Casa, 1999). Craig & Hooker (1961) infestaram o solo com *S. maydis*, em casa-de-vegetação, e observaram em estudo histológico que a infecção do colmo pode se processar a partir de raízes infectadas, pelo inóculo presente no solo. Nesse trabalho, o inóculo foi obtido de colônias de *S. maydis* com 10 dias de idade, preparadas em meio de BDA, o qual foi macerado em água e adicionado

ao solo. Casa (1997), observou a morte de plantas e sintomas de podridão radicular 21 dias após a infestação do solo com conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*. Nesse caso, utilizou-se solo autoclavado, com semeadura do milho logo após a adição do inóculo no solo, demonstrando a capacidade dos conídios presentes livres no solo em parasitar às plântulas. No entanto, não se conseguiu posteriormente determinar a densidade de inóculo no solo e a viabilidade dos conídios após a retirada das plantas, demonstrando a necessidade de mais estudos para esclarecer a possibilidade dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, livres no solo, constituírem-se em fonte de inóculo.

2.8 Medidas de controle

A instabilidade da produtividade da cultura do milho, na maioria das vezes, está relacionada às condições climáticas favoráveis à ocorrência de doenças. O controle das moléstias envolve medidas que geralmente aumentam o custo de produção, ameaçando a sustentabilidade econômica, o que tem levado os produtores à empregarem o manejo integrado de doenças.

As principais estratégias no controle das doenças incitadas por *S. maydis* e *S. macrospora* são: resistência varietal, rotação de culturas, tratamento de sementes, balanço adequado de fertilidade do solo e redução da alta densidade de plantas (Balmer & Pereira, 1987; Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996; White, 1999).

A dificuldade de obtenção de variedades resistentes às podridões do colmo e da espiga, aliado ao fato de que fungo *Stenocarpella* infecta exclusivamente plantas de milho, não forma estruturas de resistência e com conídios dispersados a curtas distâncias, são fatores que propiciam manejar a doença manipulando as condições de pré-semeadura, de maneira a reduzir ou eliminar o inóculo dos patógenos, usando integradamente sementes sadias ou tratadas com fungicidas e doses eficientes e a rotação de culturas.

2.8.1 Resistência varietal

O uso de variedades resistentes é o método preferencial no controle de doenças, sendo o mais sustentável econômica e ecologicamente. No entanto, para patossistemas envolvendo agentes causais necrotróficos, que causam podridões de raiz, colmo, espiga e mancha foliar, tem sido difícil a obtenção de variedades resistentes e poucos são os casos de sucesso.

A resistência genética de plantas de milho a *Stenocarpella* vem sendo investigada há décadas em diversas partes do mundo (Koehler, 1951; Jugenheimer, 1976; Pappelis *et al.*, 1973; Anderson & White, 1994). Grande progresso tem sido alcançado pelos investigadores através de técnicas de inoculação em diferentes sítios de infecção e em diferentes estádios de desenvolvimento da planta (Foley, 1960; Ullstrup, 1970; Jugenheimer, 1976; Pereira & Pereira, 1976; Chambers, 1988; Klapproth & Hawk, 1991; Mário, 1998), o que tem esclarecido, em parte, os processos de infecção, colonização e expressão dos sintomas em diversos híbridos testados.

A redução do nível de açúcar no colmo das plantas de milho determina a senescência dos tecidos do colmo, que é indicado pela diminuição da densidade da medula. As plantas com tecido senescido estão mais predispostas aos agentes causais das podridões do colmo (Craig & Hooker, 1961), sendo que, aparentemente, a síntese celular de substâncias de resistência diminui (Be Miller & Pappelis, 1965). Dodd (1980), também relata que a senescência ou a morte celular dos tecidos precede à podridão do colmo. Koehler (1951), em inoculação de espigas de milho selecionadas, relacionou a resistência à podridão com o bom empalhamento da espiga e com o dobramento para baixo quando maduras.

Apesar do conhecimento sobre os processos de inoculação e infecção, a obtenção de híbridos resistentes ao controle da doença tem sido limitada, resultado de diferentes reações da doença, em virtude da dificuldade de repetibilidade do grau de resistência (Flett & McLaren, 1994; Van Rensburg & Ferreira, 1997).

No Brasil, os híbridos comerciais de milho têm sido classificados em geral quanto a sua resistência às podridões do colmo e da espiga e em algumas

situações em relação à incidência de grãos ardidos. Entretanto, não existe uma descrição clara da reação dos materiais genéticos especificamente para cada patógeno envolvido com os sintomas. Apesar disso, felizmente, ainda se dispõem de híbridos tolerantes as podridões quando semeados em área com alta densidade de inóculo viável e em épocas do ano com condições climáticas favoráveis a ocorrência das doenças.

Em relação à mancha foliar de diplodia, Mário *et al.* (1997) avaliando a reação de resistência ao patógeno em 196 genótipos de milho, determinaram que 37% foram resistentes e 63 % apresentaram reação intermediária a suscetível.

Na literatura consultada não se encontrou relato da presença de raças tanto para *S. maydis* como *S. macrospora*. Sabe-se, no entanto, da existência de diferentes isolados e grau de agressividade. Hoppe (1936), estudando o antagonismo dos fungos obteve 21 isolados de *S. maydis* a partir de 25 culturas isoladas de espigas de milho. Em inoculações com várias combinações de três isolados de *S. maydis* e um de *S. macrospora*, após subsequente apodrecimento da espiga, verificou-se o efeito inibitório e usualmente somente um isolado pode ser recuperado. Hoppe (1936) relatou que nenhuma conclusão pode ser extraída a respeito do relacionamento entre a capacidade dos isolados inibir o desenvolvimento de outros e seu grau de patogenicidade. Mais recentemente, Latterell & Rossi (1983) comparando a patogenicidade dos fungos, verificaram que *S. macrospora* é mais agressivo do que *S. maydis* durante os estádios iniciais de desenvolvimento da planta. Rheeder *et al.* (1990), relata uma associação negativa entre as espécies, quando crescendo no mesmo lugar, e possivelmente quando *S. macrospora* infecta à plântula, esse pode restringir o crescimento subsequente de *S. maydis*.

2.8.2 Rotação de culturas

A prática da rotação de culturas é menos agressiva ao ambiente, contribuindo para a sustentabilidade ecológica da agricultura e viabilizando o sistema plantio direto.

Sob o ponto de vista fitotécnico, a rotação de culturas se constitui na alternância regular de diferentes culturas em uma mesma área. Essa troca deve ser efetuada de acordo com um planejamento adequado, no qual devem ser considerados diversos fatores, entre eles a cultura predominante na região, em torno da qual será programada a rotação, além dos fatores de ambiente que influirão nas culturas escolhidas para integrarem o sistema (Santos *et al.*, 1983)

Segundo Derpsch (1985), rotação de culturas pode ser definida como a alternância ordenada de diferentes espécies de plantas, num espaço de tempo, na mesma área, obedecendo, finalidades definidas, sendo que uma espécie vegetal não é repetida, no mesmo lugar, com intervalo menor que dois e, se possível, três ou mais anos.

Por outro lado, sob o ponto de vista fitopatológico, rotação de culturas consiste na semeadura de uma espécie vegetal, num mesmo local da lavoura, na mesma estação de cultivo, onde os restos culturais do cultivo anterior foram eliminados biologicamente (Reis & Casa, 1996). Nesta situação a palha foi eliminada pela ação decompositora dos microrganismos do solo; foi biologicamente degradada de tal maneira que o inóculo dos agentes necrotróficos presentes na resteva e que não formem estruturas de resistência foi eliminado ou mantido a abaixo do limiar numérico de infecção. Contrariamente, monocultura consiste no cultivo da mesma espécie vegetal, no mesmo local da lavoura, onde estão presentes seus próprios restos culturais (Reis & Casa, 1996). Assume-se assim que o controle de doenças pela rotação de culturas tem com base o princípio que a presença da palha assegura a presença do patógeno. O cultivo do milho safrinha, no Brasil, é um sistema onde a mesma espécie vegetal está sendo cultivada em sucessão no mesmo ano agrícola; neste caso, o cultivo do milho safrinha pode determinar a intensidade máxima de uma doença.

Em geral a intensidade das doenças de plantas causadas por agentes necrotróficos é maior em plantio direto e monocultura. Esse aumento deve-se a maior disponibilidade de inóculo e de sua proximidade das plântulas da nova semeadura. Por isso, o plantio direto é incompatível com a monocultura. Por outro lado, a rotação de culturas elimina este inconveniente do plantio direto.

O princípio de controle de doenças envolvido na rotação de culturas é a supressão ou eliminação do substrato apropriado para o patógeno. Sob este ponto de vista, a rotação de culturas constitui-se, também, numa medida de controle biológico. O efeito principal da rotação de culturas relaciona-se a fase de sobrevivência do patógeno (Curl, 1963). Nesta fase, os patógenos são submetidos a uma intensa competição microbiana, durante a qual, geralmente, levam desvantagem. Correm, também, o risco de não encontrar o hospedeiro, o que determina, geralmente, sua morte por desnutrição.

Lembra-se que a intensidade das doenças causadas por *S. maydis* e *S. macrospora* está relacionada com quantidade de resíduos culturais presentes na superfície do solo, além disso, os fungos infectam exclusivamente plantas de milho e não formam estruturas de resistência (Mora & Moreno, 1984; Flett & Wehner, 1991; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996). Dessa maneira, o milho somente deverá voltar a ser cultivado na mesma lavoura quando a densidade de inóculo de *Stenocarpella* estiver abaixo do limiar numérico de infecção, ainda não determinado, ou após a eliminação completa dos restos culturais. Portanto, a rotação de culturas, com espécies vegetais não suscetíveis, constitui-se numa estratégia eficiente no controle da podridão do colmo de diplodia, podridão branca da espiga e mancha foliar de diplodia. Outros patógenos também podem infectar o milho, sendo assim, muito importante à ação do homem na escolha das espécies vegetais alternativas que possam integrar o sistema de rotação de culturas. Geralmente, as espécies de plantas de folhas largas, como por exemplo, a soja e o feijão, são as culturas que integram o sistema de rotação visando à exploração econômica da atividade agrícola (Reis & Casa, 1996; Casa *et al.*, 2000).

2.8.3 Controle do patógeno associado à semente

Em plantio direto, a sustentabilidade da cultura do milho poderá ser alcançada pelo uso de sementes livres dos patógenos e/ou com baixa incidência,

pelo tratamento de semente com fungicidas que levem a erradicação dos fungos e pela rotação de culturas (Reis & Casa, 1996; Casa *et al.*, 2000).

Em geral, a intensidade das doenças do milho é maior em plantio direto e monocultura. Sob condições climáticas favoráveis os patógenos atingem a espiga e determinam, conseqüentemente, a infecção das sementes. Assim, pode-se inferir que as lavouras produtoras de semente de milho híbrido não devem ser conduzidas em monocultura.

A semente de milho infectada por *S. maydis* e *S. macrospora* introduz o inóculo nas lavouras de rotação de culturas ou onde a gramínea nunca foi cultivada. O processo de transmissão dos patógenos da semente para as plantas ocorre normalmente com micélio do fungo colonizando o sistema radicular e a base do colmo (McNew, 1937; McGee, 1988; Casa *et al.*, 1998b). Posteriormente, sob monocultura, os patógenos sobrevivem na fase saprofítica, multiplicando-se nos restos culturais. Esse processo resulta num aumento do inóculo disponível, e dependendo do clima pode resultar em epidemias com danos e perdas na cultura.

O tratamento de sementes de milho com fungicidas têm como objetivos controlar fungos associados à semente e protegê-las contra aqueles do solo (Lasca, 1986; Pereira, 1986; Casa *et al.*, 1995; Reis *et al.*, 1995; Pinto, 1996). A finalidade do controle de *S. maydis* e *S. macrospora* associados à semente é evitar a transmissão semente-plântula, evitando ou reduzindo a intensidade de podridões de raízes e da base do colmo na lavoura. A erradicação de *S. maydis* e *S. macrospora* associados às sementes de milho tem sido obtida com o uso de mistura de fungicidas, doses eficientes e qualidade do tratamento (Casa, 1997; Casa *et al.*, 1998b).

2.8.4 Balanço adequado da fertilidade do solo

Como regra as plantas de milho tendem a formar um grande número de grãos por espiga. Após a floração, o fluxo de carboidratos dentro da planta é direcionado prioritariamente ao enchimento de grãos. Quando, em algumas

situações, a planta não produz carboidratos em quantidade suficiente, a competição leva os tecidos da raiz e da base do colmo senescerem precocemente. À medida que as células iniciam o processo de senescência, seus tecidos tornam-se mais predispostos à colonização dos fungos. O ponto chave é a disponibilidade de nitrogênio (N) e potássio (K), em quantidade suficiente para satisfazer a demanda do metabolismo da planta durante todo o período de crescimento. A falta ou desequilíbrio de N e K contribui para o aumento das podridões do colmo. O balanço e o fornecimento contínuo de N mantém as células da medula ativa por um período mais longo de tempo. O K está envolvido com as funções estomatais bem como as vias metabólicas. Quando a planta encontra-se deficiente de K, a taxa de fotossíntese é reduzida, podendo resultar na senescência mais rápida da medula (Smith & White, 1988; White, 1999). Foley & Wernham (1954) determinaram que uma alta proporção de N:K (200:0) aumentou a severidade interna da podridão do colmo, a quebra do colmo e a morte prematura. Entretanto, White *et al.* (1978) mostraram que a podridão do colmo diminuiu com o aumento crescente das doses de nitrogênio. Blum *et al.* (1998) relataram uma redução de aproximadamente 3% na incidência de grãos ardidos com o aumento de doses de N aplicado em cobertura. No entanto, na safra seguinte, as aplicações de diferentes doses de N na base e em cobertura, tanto para milho semeado pós-aveia com pós-nabo, não apresentaram diferenças significativas na incidência de grãos ardidos (Blum, comunicação pessoal).

2.8.5 População de plantas

Tem sido largamente aceito que as intensidades das podridões do colmo e da espiga do milho aumentam com o incremento na população de plantas (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992). À medida que a população de plantas aumenta, a demanda por nutrientes e água também é incrementada e, quando não for devidamente suprida qualitativa e quantitativamente, pode predispor as plantas à infecção.

Denti (2000) relatou que independentemente da rotação ou da monocultura, o aumento populacional determinou incremento na incidência das podridões do colmo. Trento (2000) verificou que a medida que aumentou a população de plantas aumentou linearmente a incidência de grãos ardidos. Nestes trabalhos, os autores estudaram populações de 30, 40, 50, 60 e 70 mil plantas/ha, em sistema plantio direto em monocultura e rotação de culturas. Em ambos experimentos a incidência da podridão do colmo e grãos ardidos foi maior em monocultura, comparado à rotação de culturas. Blum *et al.* (1998), também haviam relatado um aumento de aproximadamente 5 % na incidência de grãos ardidos quando a população de plantas aumentou de 50 para 70 mil plantas/ha.

A população final de plantas interfere diretamente na produção da cultura do milho. Dessa maneira, antes de reduzir drasticamente a população, deve-se levar em consideração o potencial de rendimento do híbrido, analisando-se o custo benefício entre a porcentagem de redução no rendimento (Kg/ha) ou desconto por grãos ardidos (%) em relação a produtividade final, uma vez que há diferenças entre híbridos comerciais na reação à podridão de colmo e incidência de grãos ardidos.

CAPÍTULO I

DECOMPOSIÇÃO DOS RESTOS CULTURAIS DO MILHO E SOBREVIVÊNCIA SAPROFÍTICA DE *STENOCARPELLA* *MACROSPORAE STENOCARPELLA MAYDIS*

RESUMO

Em amostras de colmos de milho coletadas em lavouras comerciais, conduzidas no sistema plantio direto, localizadas na Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, no período de 1998 a 2000, determinou-se a sobrevivência saprofítica dos fungos *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*. Constatou-se que a presença da palha de milho infectada na época de semeadura assegura a presença e a viabilidade dos fungos. A decomposição da palha do milho mantida na superfície do solo foi de 78,5 % aos 29 meses de exposição no campo. Comparando-se a posição do resíduo cultural no solo, estimou-se que a decomposição completa de segmentos de colmos infectados por *S. maydis* e *S. macrospora* mantidos na superfície do solo foi mais lenta do que para os enterrados. A presença dos picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* foi detectada até o final das avaliações somente para os colmos mantidos na superfície do solo. A frequência de recuperação dos picnídios diminuiu ao longo tempo. O isolamento e a viabilidade dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* dos colmos mantidos na superfície do solo foi superior a 90 % após 320 dias de exposição dos colmos no campo. Os resultados

demonstraram que no sistema plantio direto, enquanto existir a presença da palha de milho infectada, os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* estarão viáveis.

Palavras-chave: fonte de inóculo, podridão de diplodia, plantio direto, *Zea mays* L.

ABSTRACT

Decomposition of corn residue and saprophytic survival of *Stenocarpella macrospora* and *Stenocarpella maydis*

In corn stalks samples taken from commercial fields conducted under no-till system, at Planalto Médio of Rio Grande do Sul, in 1998 and 2000 growing seasons, the saprophytic survival of *Stenocarpella macrospora* and *S. maydis* fungi associated with corn residue was determined. It was demonstrated that the presence of infected corn residue at sowing time ensures the presence and the viability of *Stenocarpella* spp. Corn residue decomposed 78.5 % of its weight, in experiment under no-till, at 29 months of field exposure. By comparing the position of corn residue in the soil, it was shown that decomposition of corn residue segments infected by *S. maydis* and *S. macrospora*, kept at soil surface, was slower than when buried. The presence of *S. maydis* and *S. macrospora* pycnidia was detected up to the final assessments restricted to corn stalks kept at the soil surface. The frequency of recovered pycnidia decreased along the time. Isolations and conidia viability of *S. maydis* and *S. macrospora* in stalks kept at the soil surface was higher than 90 % after 320 days of exposition in the field. Data showed that when corn is cultivated under no-till, while infected residue is present, the presence and viability of *S. maydis* and *S. macrospora* fungi is also ensured.

INTRODUÇÃO

Os fungos *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton [Sin. *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc.; *D. zea* (Schw.) Lev.] e *S. macrospora* (Earle) Sutton [Sin. *D. macrospora* Earle in Bull] parasitam plantas de milho causando podridões do colmo e da espiga (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; White, 1999). O patógeno *S. macrospora* também causa sintoma de mancha foliar (Ram *et al.*, 1973; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979; Latterell & Rossi, 1983). As fontes de inóculo desses patógenos são as sementes infectadas (McGee, 1988; Casa, 1997) e os restos culturais que permanecem no solo de uma estação de cultivo para outra (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996).

A intensidade das podridões do colmo e da espiga (Ullstrup, 1964; Flett & Wehner, 1991) e das lesões foliares (Mora & Moreno, 1984) é resultado da quantidade de resteva infectada presente na superfície do solo. O posicionamento da palha infectada sobre o solo favorece o processo de inoculação das plantas de milho estabelecidas no novo cultivo (Reis & Casa, 1996). Nos restos culturais, constituídos principalmente por colmos de milho, o fungo *S. maydis* sobrevive saprofiticamente produzindo picnídios e liberando conídios em cirros que, constituem-se, na principal fonte de inóculo primário (Flett *et al.*, 1992). O período de viabilidade de *S. maydis* é maior na palha mantida sobre a superfície do solo do que na enterrada (Flett *et al.*, 1992).

Na busca da sustentabilidade para produção de grãos, o milho, a soja, o trigo, a cevada e outras culturas de lavoura, passaram a ser cultivadas no sistema plantio direto, visando reduzir os custos de produção. Neste sistema, praticamente a totalidade dos restos culturais permanece na superfície do solo. Por isso, em plantio direto, ocorre maior incidência de plantas doentes e de grãos infectados por *S. maydis* (Flett & Wehner, 1991). Na Região Sul do Brasil, a intensidade das podridões do colmo e da espiga tem sido maior em lavouras conduzidas em plantio direto e monocultura (Reis & Casa, 1996; Casa *et al.*, 2000). Neste sentido é importante estudar as relações existentes

entre a quantidade de palha mantida sobre o solo e a densidade de inóculo dos fungos. A determinação do período de decomposição dos restos culturais de milho e a sobrevivência saprofítica de *S. macrospora* e *S. maydis* ainda não foi devidamente quantificada nas lavouras do sul do Brasil.

O objetivo do presente trabalho foi determinar o período de sobrevivência saprofítica de *S. macrospora* e *S. maydis* em restos culturais de milho, em amostras de colmos provenientes de lavouras comerciais conduzidas em plantio direto na Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, bem como quantificar, em experimentos de campo, o período de decomposição da resteva do milho e a viabilidade desses fungos.

Nesse trabalho serão empregados os termos resto cultural, resíduo cultural, resteva, palha e palhada como sinônimos.

MATERIAL E MÉTODOS

Incidência e viabilidade de *S. macrospora* e *S. maydis* em colmos de milho naturalmente infectados coletados em lavouras comerciais

A determinação da viabilidade de *S. maydis* e *S. macrospora*, na fase saprofítica em restos culturais de milho, foi realizada em lavouras conduzidas sob plantio direto na Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, nos anos de 1998, 1999 e 2000. Em cada lavoura coletaram-se, ao acaso, 30 pedaços de colmo de milho, os quais foram levados ao Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo/FAMV-UPF. A época de amostragem dos restos culturais em ambos anos ocorreu entre dezembro e março, período que coincide com a floração e maturação das plantas de milho na maior parte das lavouras da Região do Planalto Médio. Portanto, os colmos foram coletados, aproximadamente, 8 a 12 meses após a colheita do milho da safra do ano anterior. A escolha da época para determinação da incidência e viabilidade de *S. maydis* e *S. macrospora* na resteva de milho, baseou-se no fato de que a partir do estágio de fecundação

(duas a três semanas após a polinização) as plantas encontram-se mais predispostas à infecção pelos fungos (Chambers, 1988; Bensch *et al.*, 1992). Desta forma quantificou-se o inóculo disponível coincidindo com o período de predisposição da doença.

No laboratório, os colmos de milho foram lavados em água de torneira para remover o solo aderido e submetidos à câmara úmida durante 24 horas, com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h, para indução da esporulação dos fungos. As câmaras úmidas constituíram-se de bandejas de alumínio de 30 cm de largura x 45 cm de comprimento x 4 cm de altura, contendo em seu interior duas camadas de papel toalha umidecido, vedadas por saco plástico transparente. Decorrido o tempo de incubação, determinou-se individualmente em lupa estereoscópica a incidência de colmos colonizados por *Stenocarpella* spp. Considerou-se infectado o colmo com a presença de no mínimo um picnídio maduro, ou seja, com formação de cirro de esporos. A viabilidade dos fungos foi quantificada pelo plaqueamento dos conídios em meio de ágar-água 1% + cloranfenicol (15 gotas de sulfato de quemisetina/L de meio). Neste processo, retirou-se com agulha histológica cinco cirros ao acaso por colmo colocando-os individualmente em tubos de ensaio contendo 1 mL de água destilada. A suspensão foi vertida em placas de Petri plásticas de 80 mm de diâmetro contendo ágar-água. O material foi incubado por 24 horas a temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h. Considerou-se viável o conídio com tubo germinativo maior ou igual a maior largura do esporo visualizado em microscópio ótico com magnitude de 100 vezes.

Os dados obtidos foram expressos em incidência de colmos colonizados por *S. maydis* e *S. macrospora* para cada lavoura amostrada, frequência de lavouras onde os fungos foram detectados e porcentual de germinação dos conídios.

Decomposição dos restos culturais do milho

A decomposição dos resíduos culturais do milho foi determinada em ensaios conduzidos no campo, na área experimental da FAMV-UPF, com adoção de metodologia semelhante às descritas por Blum (1997) e Reis *et al.* (1998) para às culturas da aveia e do trigo, respectivamente.

No ano de 1995, a decomposição dos restos culturais foi determinada com palha de diferentes híbridos de milho, a qual foi composta principalmente de colmos coletados após a colheita da cultura em lavouras do município de Passo Fundo, RS, localizado na Região do Planalto Médio do RS. A palha foi acondicionada nas unidades experimentais, constituída de sacos de malha plástica, malha 2 x 2 mm, medindo 50 x 50 cm, com cinco repetições. Cada recipiente, contendo a quantidade de palha correspondente à aproximadamente 0,25 m² de área de lavoura, foi fechado com grampo metálico, pesado, identificado e depositado na superfície do solo, no campo, para simular o sistema plantio direto. Mensalmente as unidades foram levadas ao laboratório, lavadas com jato de água e secas em estufa a 40 °C, até atingir peso constante. Os dados foram expressos em percentagem de resíduo remanescente em função do tempo.

Em 1998 a decomposição dos resíduos culturais foi determinada com resteva de diferentes híbridos de milho, mantida naturalmente sobre o solo, protegida lateralmente por uma moldura de madeira de 1 m² e 25 cm de altura, com quatro repetições. A quantidade de resteva colocada dentro das molduras foi proporcional a quantidade de palha remanescente sobre o solo das lavouras onde o resíduo foi coletado. As molduras de madeira foram perfuradas lateralmente, ao nível do solo, para permitir a saída de água da chuva. Nesse ano, também foi determinada a decomposição dos restos culturais com resíduos acondicionados em sacos de malha plástica, com metodologia semelhante à descrita para o ensaio realizado no ano de 1995. O material coletado mensalmente foi levado ao laboratório para remoção do solo aderido aos restos culturais e malha plástica. Depois de seco e pesado, os restos culturais foram devolvidos ao campo. Os dados obtidos foram expressos em porcentagem de resíduo remanescente em função do tempo.

Nos ensaios de decomposição dos resíduos culturais, procurou-se semear trigo no inverno e soja no verão, entre as unidades experimentais, para simular uma lavoura conduzida em plantio direto. Nesses experimentos não se trabalhou com amostras destrutivas.

Efeito da posição dos restos culturais do milho no solo sobre o período de decomposição e sobrevivência de *S. maydis* e *S. macrospora*

O ensaio foi estabelecido na área experimental da FAMV-UPF em 1999, procurando-se determinar, em função do tempo, o período de decomposição dos colmos de milho e a sobrevivência saprofítica dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*. Os colmos de milho foram enterrados e mantidos na superfície do solo, simulando os sistemas plantio convencional e plantio direto, respectivamente.

Os colmos de diferentes híbridos de milho, visualmente sem sintoma de podridão, foram coletados em lavouras comerciais pouco antes da colheita e levados para o laboratório. Os colmos foram cortados em segmentos de 3-4 cm de comprimento e deixados entre 10 e 15 dias sobre a bancada do laboratório, com o intuito de desidratá-los. Alguns colmos foram escolhidos ao acaso, para serem esterilizados e inoculados, sendo embebidos em água durante 24 h (50 pedaços num erlenmeyer de 2 L de capacidade). O excesso de água foi drenado e o material submetido a esterilização por meio de duas autoclavagens (temperatura de 125 °C durante 30 minutos), com intervalo de 24 h entre cada processo. Posteriormente, colocaram-se em cada erlenmeyer 10 discos com 7 mm de diâmetro de meio de cultura colonizado com *S. maydis* ou com *S. macrospora*. Os frascos foram incubados em sala de crescimento a temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h, durante 15 dias, até a completa colonização dos colmos (abundante crescimento miceliano). Nesse período de tempo, os erlenmeyers foram agitados para colonização uniforme dos colmos. Os colmos colonizados foram colocados em bandejas de alumínio de 30 x 45 x 4 cm, contendo em seu interior uma camada de 1,0 cm de areia de rio lavada e esterilizada. As bandejas foram cobertas com sombrite preto (malha 2 x 2 mm) e

levadas para casa-de-vegetação, sendo umidecidas periodicamente até a maturação dos picnídios. Finalmente, determinou-se o peso médio dos colmos, o número de picnídios por 0,25 cm² e a germinação dos conídios. A viabilidade dos fungos foi determinada pela indução da extrusão do cirro em câmara úmida e posterior plaqueamento dos conídios em ágar-água (1%). As placas de Petri foram mantidas a temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h, durante 24 horas.

No campo, o ensaio constou de 8 tratamentos, considerando colmos esterilizados ou não, colonizados pelas duas espécies de *Stenocarpella* e enterrados a 5 cm de profundidade ou mantidos na superfície do solo. Os tratamentos constituíram-se de: a) colmo esterilizado colonizado por *S. maydis* mantido na superfície do solo; b) colmo esterilizado colonizado por *S. maydis* enterrado no solo; c) colmo esterilizado colonizado por *S. macrospora* mantido na superfície; d) colmo esterilizado colonizado por *S. macrospora* enterrado; e) colmo esterilizado mantido na superfície; f) colmo esterilizado enterrado; g) colmo não esterilizado mantido na superfície; h) colmo não esterilizado enterrado.

As unidades experimentais constaram de parcelas de 50 cm de comprimento constituídas da entrelinha da semeadura do cereal de inverno, neste caso, o trigo, com espaçamento de 17 cm. No verão, na área do experimento, semeou-se soja para simular situação de lavoura. Os colmos foram colocados no campo quando o trigo estava no início do estágio de desenvolvimento do perfilhamento. Nos tratamentos com colmos enterrados, o processo foi feito com o auxílio de uma enxada. Em cada parcela foram distribuídos 5 colmos. O delineamento experimental constituiu-se de blocos ao acaso com 8 tratamentos e 3 repetições para cada época de avaliação.

As avaliações foram realizadas num intervalo de tempo de 45 a 60 dias. Os colmos removidos do campo foram levados ao laboratório onde para cada tratamento quantificou-se o peso dos colmos, a frequência de colmos com picnídios maduros (extrusão do cirro), o número de picnídios/cm² e a germinação dos conídios. Nesse experimento trabalhou-se com amostras

destrutivas. Os dados obtidos foram expressos na porcentagem de decomposição dos colmos de milho e no período de sobrevivência dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora* em função do tempo. Os resultados da decomposição dos colmos foram submetidos a análise de regressão e a análise de variância com as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Incidência e viabilidade de *S. maydis* e *S. macrospora* em colmos de milho naturalmente infectados coletados em lavouras comerciais

Os dados obtidos referentes a recuperação dos fungos *S. macrospora* e *S. maydis* associados aos colmos de milho coletados nas lavouras de plantio direto da Região Fisiográfica do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, nos anos de 1998, 1999 e 2000, constam no Apêndice B.

Em 1998, os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* foram detectados, respectivamente, em 47,1 e 52,9 % das lavouras amostradas. No ano de 1999, o percentual de lavouras onde os fungos foram encontrados foi de 53,3 e 40,0%, respectivamente. Já no ano de 2000, a proporção de lavouras onde os fungos foram recuperados foi de 64,7 e 70,6 %, respectivamente, sendo o ano com as maiores frequências observadas. As incidências de colmos infectados por lavoura amostrada variaram de zero até 50 % para *S. maydis*, e de zero até 53,3 % para *S. macrospora*, ambas determinadas no ano de 1998. Considerando-se as incidências médias de colmos infectados somente nas lavouras onde os fungos foram detectados, verificou-se que os maiores valores percentuais também foram obtidos no ano de 1998, com média de 22,5 e 20,4 % para *S. maydis* e *S. macrospora*, respectivamente.

A incidência média de colmos colonizados pelos fungos, nos três anos agrícolas, apresentou uma frequência de ocorrência semelhante para as duas espécies, com percentual de 55,0 % para *S. maydis* e 54,5 % para *S. macrospora* (Tabela 1). Os resultados mostraram que os fungos detectados em

mais de 50 % das lavouras amostradas, comprovando principalmente a ocorrência da espécie *S. macrospora* na cultura do milho no Brasil. A mancha foliar de diplodia tem sido detectada com maior ocorrência e intensidade nas lavouras de milho conduzidas em monocultura no sistema plantio direto (Casa *et al.*, 2000; Reis & Casa, 2000). O inóculo de *S. macrospora*, produzido nas lesões foliares, normalmente é responsável pela infecção do colmo e da espiga das plantas de milho.

Em relação à viabilidade dos fungos *Stenocarpella* associados aos restos culturais, presentes no campo, verificou-se que os conídios obtidos dos picnídios apresentaram uma porcentagem de germinação superior a 84,0 %, com média nos três anos de 89,4 % para *S. maydis* e 87,7 % para *S. macrospora* (Tabela 1). Os resultados comprovaram que as duas espécies de *Stenocarpella*, quando presentes aos colmos de milho infectados, mantiveram a viabilidade dos esporos.

Tabela 1. Frequência e viabilidade de conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* determinada em colmos de milho naturalmente infectados provenientes de lavouras da Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, nos anos de 1998, 1999 e 2000.

Ano	Frequência ¹ (%)		Viabilidade ² (%)	
	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>
1998 ³	47,1	52,9	91,9	84,2
1999 ⁴	53,3	40,0	91,6	92,7
2000 ⁵	64,7	70,6	84,7	86,3
Média	55,0	54,5	89,4	87,7

¹30 colmos avaliados por lavoura; proporção de lavouras onde os fungos foram detectados; ²50 conídios plaqueados em ágar-água 1%, durante 24 h a 25 ± 2°C; ³17 lavouras avaliadas; ⁴15 lavouras avaliadas; ⁵17 lavouras avaliadas.

Nos Estados Unidos, Eddins (1930), avaliando a frequência das espécies de *Stenocarpella* em 618 plantas de milho de diferentes localidades do Estado da Flórida, observou, em exame microscópico dos conídios do

fungo, que 80,3 % dos colmos estavam infectados por *S. maydis*, 16,5 % por *S. macrospora* e 3,2 % com *S. frumenti*. Ocasionalmente, alguns colmos apresentaram os picnídios de duas espécies de *Stenocarpella* e, em alguns poucos casos, a presença das três espécies. No levantamento feito nos resíduos culturais de milho das lavouras da Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, não se detectou a presença de mais de uma espécie de *Stenocarpella*, além disto, a espécie *D. frumenti* não foi detectada em nenhuma lavoura.

Koehler & Boewe (1957), examinando colmos de milho infectados durante os anos de 1946, 47 e 48, no Estado de Illinois, Estados Unidos, verificaram que a percentagem média de infecção para *S. maydis* e *Gibberella zae* (Schw.) Petch, foi de 31,0 % e 25,8 %, respectivamente. Em 1959, novamente no Estado de Illinois, Hooker & White (1976), relataram que o fungo *S. maydis* foi encontrado em 86,3 % dos campos avaliados, mas em 1975, somente 5,0 % das lavouras apresentavam o patógeno. O declínio de *S. maydis* foi atribuído à especificidade do fungo ao hospedeiro, ao melhoramento genético e ao controle na produção de semente. No entanto, Anderson & White (1987), no mesmo Estado, relataram aumento da incidência de lavouras com *S. maydis* causando podridão de colmo, com valores de 38,5 e 11,1 % dos campos amostrados, respectivamente, para os anos de 1982 e 1983. Anderson & White (1987), também determinaram aumento da incidência dos fungos *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils., *G. zae* e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., em amostras de plantas de milho com sintomas de podridão do colmo. Em estudos recentes sobre a quantificação de danos no rendimento de grãos de milho, conduzidos nas Regiões do Planalto Médio do Rio Grande do Sul e dos Campos Gerais do Paraná, os principais fungos isolados das plantas com sintomas de podridão do colmo foram *C. graminicola* e *S. maydis* (Casa *et al.*, 2000; Denti, 2000). O fungo *C. graminicola* possui uma ampla gama de hospedeiros, como, por exemplo, sorgo, trigo, cevada, aveia e arroz, entretanto, muitos isolados que parasitam o milho não infectam outras gramíneas e vice-versa (Smith & White, 1988). No sul do Brasil há extensas áreas cultivadas com cereais de inverno, em plantio

direto, antecedentes ao cultivo do milho, o que pode explicar a frequência alta de ocorrência da antracnose no milho.

De modo geral, os fungos causadores de podridões do colmo apresentam, em seu ciclo de vida, uma fase parasitária sobre a planta viva e uma fase saprofítica nos restos culturais após a colheita. A sobrevivência desses fungos na palha do milho garante o inóculo para as plantas do novo cultivo. Por isso, o conhecimento detalhado do ciclo biológico dos agentes causais das podridões do colmo é fundamental para o estabelecimento das estratégias de controle. Vale ressaltar que o milho constitui-se no único hospedeiro para *S. maydis* e *S. macrospora* (Shurtleff, 1992; White, 1999). Dessa maneira, os resíduos culturais infectados, remanescentes na superfície do solo de uma safra para outra de cultivo, constituem-se na principal fonte de inóculo primário para as podridões de diplodia nas plantas da nova lavoura.

A presença da resteva de milho sobre o solo, de uma safra para outra, aliada a capacidade de germinação dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, comprova a importância do inóculo primário dos resíduos culturais infectados no processo de infectivo de plantas de milho, desde a emergência até os estádios após a fecundação, período de maior suscetibilidade a infecção do colmo e da espiga. Portanto, lavouras conduzidas em monocultura garantem a presença de *S. maydis* e *S. macrospora* na área cultivada. Em cereais de inverno, como por exemplo, o trigo e a aveia, os fungos *Bipolaris sorokiniana* Sacc. in Sorok. e *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif sobrevivem nos restos culturais no campo até que ocorra a completa decomposição dos resíduos (Blum, 1997; Reis *et al.*, 1998). Convém lembrar que os fungos *Stenocarpella*, *Bipolaris* e *Drechslera* são considerados parasitas necrotróficos, e mesmo não pertencendo a mesma classe taxonômica, possuem uma fase parasitária na planta viva e outra saprofítica nos resíduos culturais. Assim sendo, na Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, como já havia sido relatado para as helmintosporioses do trigo e da aveia, demonstrou-se que a sobrevivência de *S. maydis* e *S. macrospora* também depende da presença da palhada.

Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* quando veiculados à semente podem ser transmitidos à plântula de milho (McGee, 1988; Casa, 1997). Assim, pode-se inferir que a semente infectada introduz o inóculo em novas áreas de cultivo, a monocultura garante a presença indefinida dos parasitas na lavoura e o plantio direto assegura as condições ótimas à sobrevivência, ao aumento do inóculo e a inoculação. Portanto, as intensidades máximas da podridão do colmo de diplodia, podridão branca da espiga e mancha foliar de diplodia, devem ocorrer em plantio direto e monocultura. Desta maneira, há necessidade de eliminar ou reduzir os restos culturais eliminando ou reduzindo conseqüentemente o inóculo do patógeno. Assim como o que foi determinado em cereais de inverno, vale lembrar que o inconveniente não é o plantio direto, mas sim a monocultura. Por isso, é fundamental conhecer o período de decomposição dos restos culturais de milho.

Decomposição dos restos culturais de milho

Como a presença dos restos culturais de milho indica a existência do inóculo na área, é necessário determinar o período de tempo para que o resíduo cultural seja eliminado biologicamente. Esse, portanto, seria o tempo necessário de rotação de culturas.

Na Figura 1, apresenta-se a porcentagem de decomposição da palha monitorada a partir de maio de 1995. Os resultados demonstraram que 78,5 % da palha foram decompostos 29 meses após início das avaliações. Na Figura 2, com restos culturais colocados no campo em maio de 1998, verificou-se, após 15 meses, uma decomposição de 42,8 % da palha contida nos sacos de malha plástica e 41,9 % da palha livre sobre o solo. As diferenças no período de decomposição podem ser atribuídas às variações climáticas durante o período de condução dos ensaios, com reflexos na atividade microbiana, responsável pela decomposição da matéria orgânica (Alexander, 1961).

Com outras espécies vegetais, como por exemplo, o trigo, em ensaios igualmente realizados no município de Passo Fundo, RS, a decomposição completa dos restos culturais ocorreu de 12 a 20 meses após a colheita do

cereal (Reis, 1990; Reis *et al.*, 1998). Blum (1997), verificou para a cultivar de aveia branca, UPF 7, que o tempo necessário para decomposição foi de 18 meses. Em trabalho semelhante, Costamilan *et al.* (1999), determinaram que o período de decomposição dos resíduos culturais de soja ocorreu com 27 meses. Nestes experimentos, conduzidos em áreas de plantio direto, os patógenos *B. sorokiniana* (trigo), *D. avenae* (aveia) e *Phomopsis* spp. (soja), foram detectados sobrevivendo associados aos restos culturais enquanto os mesmos estavam presentes na lavoura.



Figura 1. Porcentagem de decomposição dos restos culturais do milho no campo da Área Experimental da FAMV/UPF, Passo Fundo, RS, durante os anos de 1995 a 1997.

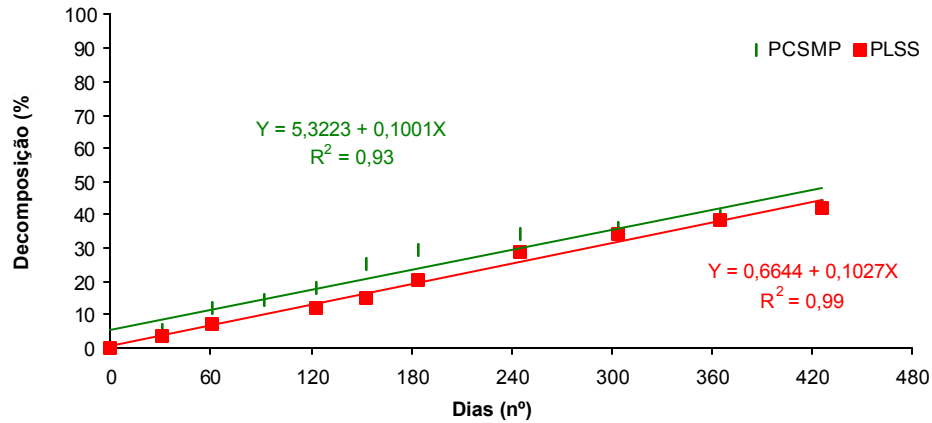


Figura 2. Porcentagem de decomposição dos restos culturais do milho no campo da Área Experimental da FAMV/UPF, Passo Fundo, RS, durante os anos de 1998 e 1999 (PCSMP = palha contida em sacos de malha plástica; PLSS = palha livre sobre o solo).

Os resultados obtidos mostraram que a decomposição da palha de milho é mais lenta que a dos cereais de inverno e da soja, além do que a metodologia empregada permitiu determinar o tempo de rotação de culturas necessário para que o milho volte a ser cultivado na mesma lavoura na ausência do inóculo. Lembra-se que os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* são considerados parasitas necrotróficos, apresentando fase saprofítica nos restos culturais e, à semelhança com os fungos citados, sua sobrevivência depende da presença da palha. Apesar de quantificada a viabilidade de *S. maydis* e *S. macrospora* nos restos culturais do milho somente de uma estação de cultivo para outra, presume-se que o período de sobrevivência saprofítica desses fungos também esteja associado à presença da palha.

Efeito da posição dos restos culturais de milho no solo sobre o período de decomposição e sobrevivência de *S. maydis* e *S. macrospora*

Os dados referentes a porcentagem de decomposição dos colmos de milho enterrados ou mantidos na superfície do solo constam na Tabela 2. Independentemente dos colmos estarem ou não esterilizados e/ou colonizados

pelos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*, os resultados mostraram que nos tratamentos onde os resíduos foram enterrados a decomposição foi mais rápida quando comparados com os colmos mantidos na superfície do solo (Figura 3). Após 320 dias, a porcentagem de decomposição dos colmos enterrados no solo foi de 77,1; 70,2; 73,9 e 78,2 % respectivamente para colmos esterilizados e colonizados por *S. maydis*, colmos esterilizados e colonizados por *S. macrospora*, colmos somente esterilizados e colmos não esterilizados (Tabela 2). Por outro lado, a porcentagem de decomposição dos colmos mantidos na superfície após 320 dias foi de 63,4; 63,0; 61,4 e 59,7 % respectivamente para colmos esterilizados e colonizados por *S. maydis*, colmos esterilizados e colonizados por *S. macrospora*, colmos somente esterilizados e colmos não esterilizados (Tabela 2). Os resultados indicaram porcentagem média de decomposição para colmos enterrados de 74,8 %, sendo que para colmos mantidos na superfície do solo a porcentagem baixou para 61,9 %. Comparando as duas situações de manejo do solo, simuladas pelo sistema plantio convencional para colmos enterrados e sistema plantio direto para colmos mantidos na superfície do solo, verificou-se, após 320 dias, uma diferença de 17,2 %. Segundo Summerel & Burgess (1989), em sistemas convencionais de preparo do solo, onde ocorre incorporação parcial do resto cultural, o mesmo é desestruturado mecanicamente com maior intensidade e propicia-se maior contato entre o resíduo e o solo, dois fatores que intensificam a decomposição. Além disso, esse maior contato entre solo e resteva reduz flutuações de temperatura e umidade, permitindo a maior atividade microbiana.

Comparando-se os tratamentos, somente na primeira avaliação, após 61 dias de decomposição, não se detectou diferença estatística. Entretanto, nos demais períodos avaliados houve diferenças estatísticas entre tratamentos, sendo que em todos períodos de tempo avaliados as quatro situações onde os colmos foram enterrados não diferiram estatisticamente (Tabela 2).

Nos tratamentos com colmos enterrados, apesar de não existir diferença estatística, verificou-se, após 320 dias, que a decomposição dos colmos não

esterilizados foi 5,5 % superior aos colmos esterilizados (Tabela 2). Comparando colmos esterilizados e colonizados, nota-se que colmos infectados por *S. maydis* apresentaram uma decomposição 8,9 % mais rápida do que colmos colonizados por *S. macrospora* (Tabela 2).

De modo geral, a porcentagem de decomposição dos colmos neste ensaio foi mais rápida quando comparada com os ensaios anteriores. Entretanto, além das variações climáticas de um ano para outro, ressalva-se que, neste experimento, a decomposição foi quantificada em amostras destrutivas de pequenos segmentos de colmo, os quais tinham aproximadamente 3-5 cm de comprimento, enquanto que nos ensaios anteriores os restos culturais eram maiores e, em duas situações, foram acondicionados em sacos de malha plástica.

Tabela 2. Período de decomposição de colmos de milho enterrados ou mantidos na superfície do solo e colonizados ou não por *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*. Passo Fundo, RS, 2000.

Tratamentos ^x	Decomposição (%)						
	61 ^y	121	157	190	231	273	320
1. Est. + Smy + Sup.	29,3 n.s.	48,8 abc	54,9 ab	55,8 ab	57,5 ab	59,9 abc	63,4 ab
2. Est. + Smy + Ent.	47,1	60,9 bc	59,1 ab	67,2 b	69,5 b	73,9 d	77,1 c
3. Est. + Smc + Sup.	32,3	44,1 ab	45,6 a	52,6 ab	52,2 a	58,4 ab	63,0 ab
4. Est. + Smc + Ent.	44,1	50,0 abc	59,0 ab	59,1 ab	64,1 ab	68,4 bcd	70,2 bc
5. Est. + Sup.	28,1	39,5 a	47,2 a	54,7 ab	56,5 ab	56,6 a	61,4 ab
6. Est. + Ent.	32,1	63,2 c	65,5 b	63,4 ab	67,4 b	70,8 cd	73,9 c
7. N/Est. + Sup.	34,7	40,4 a	48,8 a	50,8 a	56,0 ab	58,3 ab	59,7 a
8. N/Est. + Ent.	45,2	47,0 abc	57,2 ab	62,5 ab	65,1 ab	74,9 d	78,2 c
C.V. (%)	15,85	13,05	11,44	13,22	13,47	10,98	11,09

^xTratamentos: 1) colmo esterilizado colonizado por *S. maydis* mantido na superfície do solo; 2) esterilizado colonizado por *S. maydis* enterrado no solo; 3) esterilizado colonizado por *S. macrospora* mantido na superfície do solo; 4) esterilizado colonizado por *S. macrospora* enterrado no solo; 5) esterilizado mantido na superfície do solo; 6) esterilizado

enterrado no solo; 7) não esterilizado mantido na superfície do solo; 8) não esterilizado enterrado no solo; ^y Número de dias de decomposição; Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey à 5 % de probabilidade.

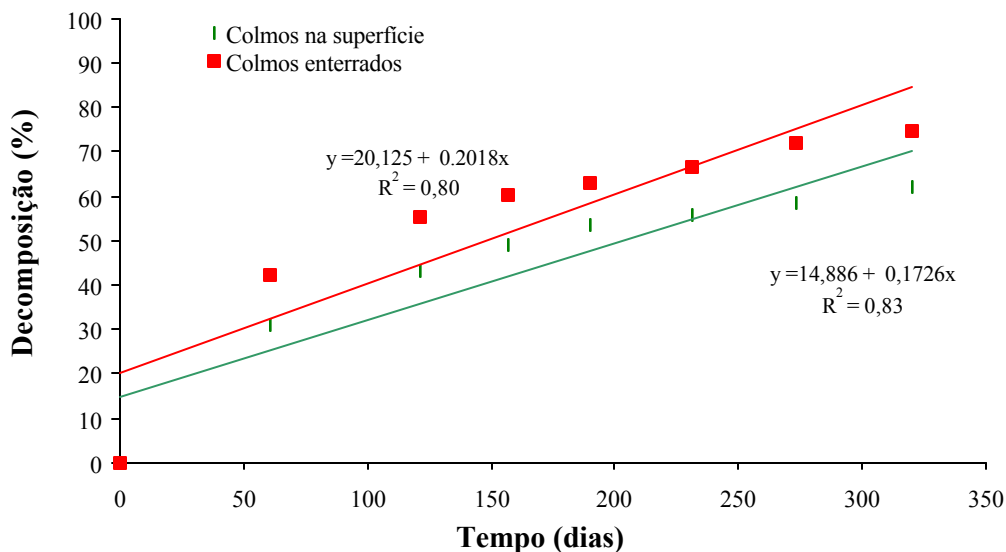


Figura 3. Porcentagem de decomposição de colmos de milho enterrados ou mantidos na superfície do solo, durante os anos de 1999 e 2000. Passo Fundo, RS.

Os resultados da frequência de colmos de milho com picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* quantificada em função do tempo constam na Tabela 3.

Nos colmos colonizados artificialmente, a presença dos picnídios foi detectada até 320 dias quando os mesmos foram mantidos na superfície do solo (Tabela 3). Nessa situação, comparando-se a frequência dos fungos, verificou-se que *S. macrospora* foi detectado em todos os segmentos de colmos até 190 dias de decomposição, enquanto que *S. maydis*, nesse mesmo período de tempo foi encontrado em 41,7 % dos colmos. No entanto, ao final das avaliações, a frequência de ocorrência de colmos com picnídios de *S.*

maydis e *S. macrospora*, mantidos na superfície do solo, se igualaram com 37,5 % (Tabela 3). Em relação aos colmos enterrados, verificou-se que a presença de colmos com picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* somente foi detectada aos 121 e 61 dias de decomposição, respectivamente (Tabela 3). Isto demonstrou que a incorporação dos colmos os submete a maior umidade favorecendo a atividade microbiana. A presença de picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* nos colmos sem esterilização em todas as avaliações demonstrou que, mesmo utilizando-se colmos aparentemente sadios, sem sintomas de podridão, o fungo provavelmente colonizou, na forma de micélio, os tecidos da medula antes da colheita (Tabela 3). Ressalta-se que o ensaio foi conduzido em área de rotação de culturas e que os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* infectam exclusivamente plantas de milho, além de não produzirem estruturas de resistência.

Em relação ao número de picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* por cm^2 de tecido do colmo, verificou-se um número inferior de corpos de frutificação naqueles colmos incorporados no solo quando comparado com os mantidos na superfície, apesar de terem sido detectados somente nas primeiras avaliações (Tabela 4). Em geral, houve uma variação do número de picnídios nos colmos da superfície do solo para cada época de avaliação. Nos colmos colonizados por *S. maydis* o número mínimo de picnídios/ cm^2 foi de 81,6 com um máximo de 180,0, enquanto que para *S. macrospora*, o mínimo foi de 71,2 e o máximo de 162,4 picnídios/ cm^2 , considerando-se a média dos cinco colmos avaliados (Tabela 4). No entanto, somente num colmo chegou-se a encontrar um número máximo de 248 picnídios/ cm^2 para *S. maydis* e 256 para *S. macrospora*. Paralelamente quantificou-se, em microscópio ótico, o número de conídios/circo, obtendo-se na média de 30 cirros, avaliados ao acaso e para cada espécie, 1.726 conídios de *S. maydis* e 504 conídios de *S. macrospora*. Considerando os resultados obtidos do número de picnídios/ cm^2 e número de conídios/circo, condiciona-se novamente os restos culturais de milho infectados como fonte de inóculo para ambas espécies de *Stenocarpella*.

Tabela 3. Presença de picnídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em colmos de milho enterrados ou mantidos na superfície do solo. Passo Fundo, RS, 2000.

Tratamentos ^x	Incidência de colmos com picnídios maduros ^y (%)						
	61 ^z	121	157	190	231	273	320
1. Est. + Smy + Sup.	58,3	83,3	66,7	41,7	37,5	25,0	37,5
2. Est. + Smy + Ent.	91,7	33,3	0	0	0	0	0
3. Est. + Smc + Sup.	100	100	100	100	75,0	16,7	37,5
4. Est. + Smc + Ent.	8,3	0	0	0	0	0	0
5. Est. + Sup.	0	0	0	0	0	0	0
6. Est. + Ent.	0	0	0	0	0	0	0
7. N/Est. + Sup.	25,0	41,2	18,2	41,7	41,7	8,3	12,5
8. N/Est. + Ent.	8,3	0	0	0	0	0	0

^x1) colmo esterilizado colonizado por *S. maydis* mantido na superfície do solo; 2) esterilizado colonizado por *S. maydis* enterrado no solo; 3) esterilizado colonizado por *S. macrospora* mantido na superfície do solo; 4) colmo esterilizado colonizado por *S. macrospora* enterrado no solo; 5) esterilizado mantido na superfície do solo; 6) esterilizado enterrado no solo; 7) não esterilizado mantido na superfície do solo; 8) não esterilizado enterrado no solo; ^yExtrusão do cirro após 24 h de incubação (média de 15 colmos); ^zNúmero de dias de decomposição.

Tabela 4. Número de picnídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em colmos de milho enterrados ou mantidos na superfície do solo. Passo Fundo, RS, 2000.

Tratamentos ^x	Nº de picnídios maduros ^y /cm ²						
	61 ^z	121	157	190	231	273	320
1. Est. + Smy + Sup.	89,6	116,0	81,6	122,4	156,0	180,0	138,8
2. Est. + Smy + Ent.	78,4	74,8	0	0	0	0	0
3. Est. + Smc + Sup.	71,2	142,0	126,8	138,8	162,4	136,0	141,2
4. Est. + Smc + Ent.	48,0	0	0	0	0	0	0
5. Est. + Sup.	0	0	0	0	0	0	0
6. Est. + Ent.	0	0	0	0	0	0	0
7. N/Est. + Sup.	74,8	118,4	122,0	156,8	153,6	172,0	132,0
8. N/Est. + Ent.	40,0	0	0	0	0	0	0

^x1) colmo esterilizado colonizado por *S. maydis* mantido na superfície do solo; 2) esterilizado colonizado por *S. maydis* enterrado no solo; 3) esterilizado colonizado por *S. macrospora* mantido na superfície do solo; 4) esterilizado colonizado por *S. macrospora* enterrado no solo; 5) esterilizado mantido na superfície do solo; 6) esterilizado enterrado no solo; 7) não esterilizado mantido na superfície do solo; 8) não esterilizado enterrado no solo; ^yExtrusão do cirro após 24 h de incubação; ^zNúmero de dias de decomposição.

A germinação dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* presentes nos corpos de frutificação, quantificada em função do tempo, consta na Tabela 5.

Os colmos mantidos na superfície do solo, quando levados ao laboratório e submetidos à câmara úmida, liberaram o cirro de conídios. Analisando-se a viabilidade dos esporos, constatou-se uma porcentagem média de germinação dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* de 91,6 e 87,9 %, respectivamente. Após 320 dias de decomposição da resteva, a porcentagem de germinação dos conídios foi de 91,1 e 90,0 %, respectivamente para *S. maydis* e *S. macrospora* (Tabela 5). Os resultados demonstraram que, enquanto existir a palha, e os picnídios estiverem maduros, os conídios apresentarão alta capacidade para germinar. Contrariamente, quando os colmos foram enterrados não houve formação de picnídio e tampouco produção dos esporos. Este fato pode ser atribuído a competição saprofítica e/ou ausência de luz. Por isto, em plantio direto a presença da palha infectada implica nas maiores intensidades de podridões do colmo, da espiga e de manchas foliares.

No tratamento com colmos sem esterilização, mantido na superfície do solo, observou-se em determinadas épocas de avaliação a presença das duas espécies de *Stenocarpella* (Tabela 5). O fungo *S. maydis* foi detectado em todas as avaliações, enquanto que *S. macrospora* somente em três épocas. Igualmente aos tratamentos com colmos inoculados e mantidos na superfície, verificou-se uma porcentagem alta na germinação dos conídios, obtendo-se uma média 91,1% para *S. maydis* e 90,2 % para *S. macrospora* (Tabela 5).

O porcentual de germinação dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, determinado nos colmos infectados mantidos na superfície do solo, indica o potencial de inóculo primário disponível de *Stenocarpella* em lavouras de plantio direto e monocultura.

Tabela 5. Viabilidade dos conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em colmos de milho enterrados ou mantidos na superfície do solo. Passo Fundo, RS, 2000.

Tratamentos ^x	Germinação dos conídios ^y (%)						
	61 ^z	121	157	190	231	273	320
1. Est. + Smy + Sup.	86,1	91,9	93,3	88,0	97,7	93,3	91,1
2. Est. + Smy + Ent.	82,0	94,1	0	0	0	0	0
3. Est. + Smc + Sup.	76,1	84,9	92,7	86,6	90,0	94,9	90,0
4. Est. + Smc + Ent.	86,9	0	0	0	0	0	0
5. Est. + Sup.	0	0	0	0	0	0	0
6. Est. + Ent.	93,3	0	0	0	0	0	0
7. S/Est. + Sup.	88,9 ^{my}	93,3 ^{my}	94,9 ^{my}	83,3 ^{my}	94,4 ^{my}	96,6 ^{my}	86,6 ^{my}
		89,1 ^{mc}		86,6 ^{mc}	94,9 ^{mc}		
8. S/Est. + Ent.	90,0	0	0	0	0	0	0

^x1) colmo esterilizado colonizado por *S. maydis* mantido na superfície do solo; 2) esterilizado colonizado por *S. maydis* enterrado no solo; 3) esterilizado colonizado por *S. macrospora* mantido na superfície do solo; 4) esterilizado colonizado por *S. macrospora* enterrado no solo; 5) esterilizado mantido na superfície do solo; 6) esterilizado enterrado no solo; 7) não esterilizado mantido na superfície do solo; 8) não esterilizado enterrado no solo; ^y50 conídios plaqueados em ágar-água 1%, durante 24 h a 25 ± 2°C; ^zNúmero de dias de decomposição; ^{my}*S. maydis* e ^{mc}*S. macrospora*.

O posicionamento dos resíduos culturais de milho no solo demonstra que diferentes práticas de manejo do solo influenciam diretamente na sobrevivência dos patógenos necrotróficos. Desta maneira, a localização da palha infectada influencia os processos de frutificação, produção, liberação, dispersão e inoculação do inóculo de muitos fungos.

O efeito de diferentes práticas de preparo do solo sobre a incidência da podridão da espiga causada por *S. maydis* foi determinado por Flett & Wehner (1991) em Geluksburg e Bloekomspruit, África do Sul, durante dois anos, demonstrando que a incidência de podridão da espiga e grãos infectados foi maior quando o milho foi cultivado em plantio direto. A porcentagem média

de espigas infectadas em 1988 e 1999, no sistema plantio direto e nas duas localidades, foi de 27,9 %, enquanto que onde o solo foi arado e gradeado a incidência foi de 9,9 %. A incidência média de grãos infectados por *S. maydis*, no sistema plantio direto, foi de 37,9 % e, para o sistema de preparo convencional, foi de 12 %.

Flett *et al.* (1992), também na África do Sul, determinaram a relação entre a posição da palha de milho no solo e a sobrevivência de *S. maydis* em colmos infectados artificialmente, obtendo 11 meses após a colheita uma produção de 90,6 e 37,9 picnídios/cm² de palha e 39,5 e 24,3 % de germinação dos esporos, respectivamente, para os restos culturais remanescentes na superfície do solo e enterrados, indicando diferença significativa tanto para a produção de picnídios como para a viabilidade do fungo. Neste estudo Flett *et al.* (1992), enterraram os segmentos de colmo de milho a 10 cm de profundidade e mensalmente coletavam 1 segmento por repetição (5 repetições). Em Passo Fundo, RS, os colmos foram enterrados a 5 cm de profundidade, retirando-se 5 segmentos por tratamento (3 repetições). Comparando os experimentos, nota-se que Flett *et al.* (1992) recuperaram o fungo *S. maydis* 330 dias após a colheita, aproximadamente 11 meses, tanto para colmos na superfície como enterrados no solo, enquanto que em Passo Fundo, *S. maydis* somente foi recuperado após 320 dias de decomposição para colmos mantidos na superfície do solo. Ressalva-se, comparando os experimentos, o menor número de picnídios/cm² e a menor porcentagem de germinação dos conídios obtidos na África do Sul.

Em 1995 e 1996 Flett *et al.* (1998), novamente avaliando o efeito de práticas de preparo do solo, demonstraram que a presença do resto cultural infectado na superfície do solo comparado com aquele enterrado aumentou a incidência da podridão da espiga causada por *S. maydis*, numa relação linear positiva entre a incidência da doença e a quantidade de palha presente na superfície do solo. Nesse experimento, os autores relatam que a alternância de práticas culturais não tem efeito sobre as podridões de espiga causada por *Fusarium* spp.

Não se encontrou na literatura consultada, informações referentes ao período de sobrevivência e viabilidade do fungo *S. macrospora* associados aos restos culturais de milho. Ressalta-se, no entanto, que a intensidade da mancha foliar causada por *S. macrospora* é maior quando o milho é conduzido em lavoura de monocultura (Mora & Moreno, 1984).

Em geral, o aumento da intensidade das podridões de diplodia aumentou, tanto nos Estados Unidos (Anderson & White, 1987), como no Brasil (Casa *et al.*, 2000; Reis & Casa, 2000), em função da adoção e difusão do plantio direto. Desta maneira, o posicionamento da palha sobre o solo torna sua decomposição mais lenta, favorecendo a esporulação, liberação, dispersão e inoculação dos fungos. É por isso que, no sistema plantio direto sob monocultura, normalmente observa-se maior intensidade das podridões do colmo e da espiga. Do ponto de vista fitopatológico, o manejo das doenças causadas por *Stenocarpella* deve ser direcionado ao emprego da rotação de culturas por um período de tempo necessário para que a palha infectada seja decomposta naturalmente.

Com base nos trabalhos de decomposição dos resíduos culturais e seu efeito na sobrevivência de patógenos necrotróficos, reforça-se os conceitos de rotação de culturas e de monocultura propostos por Reis & Casa (1996) e Casa *et al.* (2000), onde rotação de culturas consiste no plantio de uma mesma espécie vegetal, num mesmo local da lavoura, na mesma estação de cultivo, onde os restos culturais do cultivo anterior foram eliminados biologicamente. Nesta situação a palha foi mineralizada pela ação decompositora dos microrganismos do solo, os quais foram biologicamente degradados de tal maneira que o inóculo foi eliminado ou mantido abaixo do limiar numérico de infecção. Contrariamente, monocultura consiste no cultivo da mesma espécie vegetal, no mesmo local da lavoura, onde estão presentes seus próprios restos culturais. Assim sendo, a rotação de culturas e o tratamento de semente com fungicida em doses eficientes, podem eliminar ou reduzir a fonte de inóculo primário de *S. macrospora* e *S. maydis*. Essas informações devem ser

complementadas pela determinação da distância do transporte dos conídios pelo vento e/ou por respingo de chuva.

CONCLUSÕES

Os restos culturais do milho são importante fonte de inóculo primário para podridões da base do colmo e da espiga causadas por *S. macrospora* e *S. maydis*, bem como para mancha foliar causada por *S. macrospora*.

A presença da palha de milho sobre a superfície do solo, de uma safra de cultivo para outra, garante a presença de *S. maydis* e *S. macrospora*.

A monocultura de milho assegura a presença indefinida de *S. maydis* e *S. macrospora* na lavoura.

O sistema plantio direto favorece tanto a sobrevivência por período de tempo mais longo, como a inoculação de *S. maydis* e *S. macrospora*.

Os conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* podem manter-se viáveis no período de entre-safra do milho em restos culturais sobre o solo.

Os restos culturais de milho, sobre a superfície do solo, na região de Passo Fundo, RS, tiveram uma redução de peso de 78,5 % durante os 29 meses de exposição no campo.

A decomposição dos resíduos culturais incorporados no solo foi mais rápida do que para os mantidos na superfície.

A metodologia empregada na quantificação da decomposição dos restos culturais permite determinar o período de rotação de culturas, visando ao controle de *S. maydis* e *S. macrospora*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M. Organic matter decomposition. In: Alexander, M. (Ed.). Introduction to soil microbiology. New York: John Wiley. 1961. pp. 139-162.

- ANDERSON, B. & WHITE, D.G. Fungi associated with cornstalks in Illinois in 1982 and 1983. *Plant Disease* 71: 135-137. 1987.
- BENSCH, M.J., VAN STADEN, J. & RIJKENBERG, F.H.J. Time and site inoculation of maize for optimum infection of ears by *Stenocarpella maydis*. *Journal of Phytopathology* 136: 265-269. 1992.
- BLUM, M.M.C. *Pyrenophora avenae*: ocorrência, inóculo, patogenicidade e sobrevivência (Dissertação de Mestrado). Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1997.
- CASA, R.T. *Diplodia maydis* e *Diplodia macrospora* associados à semente de milho. (Dissertação de Mestrado). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1997.
- CASA, R.T., REIS, E.M., SEVERO, R., DENTI, E., TRENTO, S. & BLUM, M.M.C. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: Sandini, I.E. & Fancelli, A.L. (eds). Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de pesquisa Agropecuária, 2000. p. 131-146.
- CHAMBERS, K.R. Effect of time of inoculation on *Diplodia* stalk and ear rot of maize in South Africa. *Plant Disease* 72: 529-531. 1988.
- COSTAMILAN, L.M., LHAMBY, J.C.B. & BONATO, E.R. Sobrevivência de fungos necrotróficos em restos de cultura da soja, em sistema de plantio direto. *Fitopatologia Brasileira* 24: 175- 177. 1999.
- DENTI, E.A. Incidência de fungos, efeito das práticas culturais, reação de genótipos e quantificação de danos associados com as podridões da base do

colmo do milho (Dissertação de Mestrado). Passo fundo. Universidade de Passo Fundo. 2000.

EDDINS, A.H. Dry rot of corn caused by *Diplodia macrospora* Earle. *Phytopathology* 20: 439-448. 1930.

FLETT, B.C. & WEHNER, F.C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. *Journal of Phytopathology* 133: 327-333. 1991.

FLETT, B.C., WEHNER, F.C. & SMITH, M.F. Relationship between maize stubble placement in soil and survival of *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*). *Journal of Phytopathology* 134:33-38. 1992.

FLETT, B.C., McLAREN, N.W. & WEHNER, F.C. Incidence of ear rot pathogens under alternating corn tillage practices. *Plant Disease* 82: 781-784. 1998.

HOOKE, A.L. & WHITE, D.G. Prevalence of corn stalk rot in Illinois. *Plant disease* 60: 364-365. 1976.

KOEHLER, B. & BOEWE, G.H. Causes of corn stalk in Illinois. *Plant Disease* 41: 501-504. 1957.

LATTERELL, F.M. & ROSSI, A.E. *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*) and *S. maydis* (= *D. maydis*) compared as pathogens of corn. *Plant Disease* 67: 725-729. 1983.

MARASAS, W.F.O. & VAN DER WESTHUIZEN, G.C.A. *Stenocarpella macrospora*: the cause of leaf blight and cob rot of maize (*Zea mays*) in South Africa. *Phytophylactica* 11: 61-64. 1979.

- McGEE, D.C. Maize diseases: A reference source for seed technologists. St. Paul: The American Phytopathological Society. 1988. 150p.
- MORA, L.E. & MORENO, R.A. Cropping pattern and soil management influence on plant diseases: I. *Stenocarpella macrospora* leaf spot of maize. Turrialba 34: 35-40. 1984.
- RAM, A., RAM, C. & ROCHA, H.M. A new disease of maize in Bahia, Brazil, with special reference to its causal organism. Turrialba 23: 227-230. 1973.
- REIS, E.M. Control of disease small grains by rotation and management of crop residues, in Southern Brazil. In: International Workshop on Conservation Tillage Systems; Conservation Tillage for Subtropical Areas. Proceedings... Passo Fundo: CIDA/EMBRAPA-CNPT, 1990. pp.140-146.
- REIS, E.M. & CASA, R.T. Manual de identificação e controle de doenças de milho. Passo Fundo. Aldeia Norte Editora, 1996. 80p.
- REIS, E.M. & CASA, R.T. Controle de doenças fúngicas na cultura do milho, em plantio direto, no sul do Brasil. In: Borges, G. & Borges, L.D. (eds). Seminário sobre tecnologia de produção e comercialização do milho. Passo Fundo, RS. Resumo de Palestras. Editora Aldeia Norte, Passo Fundo, RS. 2000. p.62-71.
- REIS, E.M., SILVA, C.E.L., CASA, R.T. & MEDEIROS, C.A. Decomposição de restos culturais do trigo e sobrevivência de *Bipolaris sorokiniana*. Fitopatologia Brasileira 23: 62-64. 1998

SHURTLEFF, M.C. Compendium of corn diseases. American Phytopathological Society. APS Press. Minnesota, USA. 1992. 105p.

SMITH, D.R. & WHITE, D.G. Disease of corn. In: Sprague, G.F. & Dudley Y.W. Corn and Corn Improvement. 3.ed. 1988. p.687-766. (Agronomy Monograph, 18)

SUMMEREL, B.A. & BURGESS, L. Decomposition and chemical composition of cereal straw. Soil Biology & Biochemistry 4: 551-559. 1989.

ULLSTRUP, A.J. Observations on two epiphytotics of Diplodia ear rot of corn in Indiana. Plant Disease 48:414-415. 1964.

WHITE, D.G. Compendium of corn diseases. Third edition. American Phytopathological Society. APS Press. Minnesota, USA. 1999. 78p.

CAPÍTULO II

DISPERSÃO VERTICAL E HORIZONTAL DE CONÍDIOS DE *STENOCARPELLA MACROSPORAE STENOCARPELLA MAYDIS*

RESUMO

Em experimentos conduzidos no campo, quantificaram-se a dispersão vertical e horizontal dos conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* liberados de palha de milho naturalmente infectada. Considerando o período do dia em que os esporos foram coletados, verificou-se que 93 % e 88 % do número total de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, respectivamente, foram capturados durante o dia, diferindo estatisticamente do período noturno. O número de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* capturados no ar foi inversamente proporcional à distância da posição vertical e horizontal das armadilhas da fonte de inoculo. Os conídios foram capturados até uma altura de 2 m acima e distantes 120 m da fonte de inóculo. No entanto, em ambos experimentos, a frequência e o número de esporos coletados foram maiores até 25 cm acima e 20 m distante da fonte de inóculo. Além disto, a dispersão dos conídios isolados ou agrupados no cirro, ocorreu livremente no ar, não necessitando estarem veiculados a gotículas d'água, como outros fungos da classe Sphaeropsidaceae.

Palavras-chave: disseminação, milho, plantio direto, podridão de diplodia, propágulos

ABSTRACT

Vertical and horizontal dispersion of conidia of *Stenocarpella macrospora* and *Stenocarpella maydis*

In experiments carried out in the field the aerial dispersal of *Stenocarpella maydis* and *S. macrospora* conidia from naturally infected corn straw was quantified. The data indicated that the 93 % and 88 % of the total number of sampled conidia of *S. maydis* and *S. macrospora*, respectively, were collected during the day, differing statistically from the night period. Number of sampled conidia of both fungi, was inversely proportional to the vertical and horizontal distance of spore traps from the inoculum source. Conidia were collected up to 2.0 m height and up to 120.0 m far from the inoculum source. Nevertheless, in both experiments, the frequency and the number of collected spores were the highest at 25.0 cm height and at 20.0 m of distance from the inoculum source. It should be stressed that conidia were dispersed in the air as individual spores or grouped in cirri and not essentially associated to rain splashes as in other Sphaeropsidaceae fungi.

INTRODUÇÃO

As podridões do colmo e da espiga de plantas de milho podem ser causadas pelos fungos *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton [Sin. *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc.; *D. zae* (Schw.) Lev.] e *S. macrospora* (Earle) Sutton [Sin. *D. macrospora* Earle in Bull.] (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; White, 1999). O fungo *S. macrospora* também pode causar sintoma de mancha foliar (Johann, 1935; Ram *et al.*, 1973; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979). Os fungos sobrevivem em sementes e nos restos culturais infectados (Ullstrup, 1964; McGee, 1988; Casa, 1997).

A intensidade das podridões de diplodia é maior nas lavouras onde estão presentes os restos culturais, como ocorre, por exemplo, quando se cultiva o milho em monocultura (Ullstrup, 1964; Flett & Wehner, 1991). Na

Região Sul do Brasil os danos na produção de grãos tem sido maiores em lavouras conduzidas no sistema plantio direto em monocultura (Reis & Casa, 1996). Nos restos culturais, constituídos em sua maioria por colmos, os fungos sobrevivem saprofiticamente, principalmente na forma de picnídios (Flett *et al.*, 1992), produzindo e liberando conídios em cirros os quais se constituem na principal fonte de inóculo primário.

Alguns fungos que produzem corpos frutíferos, como por exemplo, os picnídios, comumente liberam os esporos na presença de água, com sua posterior dispersão veiculados em respingos de gotas d'água da chuva ou de irrigação (Fitt *et al.*, 1989). No caso de *S. maydis* e *S. macrospora*, existe pouco estudo sobre os mecanismos que envolvem a maturação dos picnídios, extrusão do cirro de conídios do picnídio e a posterior dispersão dos esporos. Poucas são as informações disponíveis tratando sobre a distância e a altura que o inóculo pode ser transportado, sendo relatado apenas que as maiores intensidades das podridões do colmo e da espiga ocorrem próximas da fonte de inóculo (Ullstrup, 1964; Del Río & Melara, 1991).

O objetivo do presente trabalho foi determinar o período do dia em que ocorre a liberação e a dispersão dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, bem como quantificar a distância de transporte vertical e horizontal pelo vento dos esporos a partir da fonte de inóculo constituída por palha de milho naturalmente infectada.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de dispersão vertical e horizontal dos conídios de *S. macrospora* e *S. maydis* foram instalados em área de lavoura conduzida em semeadura direta, sem a presença de lavoura de milho ou restos culturais da gramínea a menos de 500 m de distância. Dessa maneira, evitou-se a influência de inóculo externo constituído pelos conídios dos fungos que não fosse o proveniente da fonte de inóculo acrescentada na área. A determinação da

ausência do inóculo foi monitorada pela presença de armadilhas de esporos colocadas no local 15 dias antes da implantação do experimento.

A fonte de inóculo para os ensaios constituiu-se principalmente de colmos de milho naturalmente infectados com *S. maydis* e *S. macrospora*, procedentes de lavoura de monocultura a qual apresentava alta intensidade de mancha foliar, podridão do colmo e da espiga causadas por *Stenocarpella*. Os colmos foram distribuídos uniformemente na superfície do solo, sobre a resteva de soja, simulando a mesma quantidade de resíduo remanescente da lavoura após a colheita (g de palha/m²). Para isso, na lavoura foram coletadas 5 amostras de palha numa área de 0,25 m², sendo posteriormente pesadas. O peso médio da resteva obtido na lavoura serviu de base para o cálculo da quantidade de palha necessária para cobrir a área da fonte de inóculo. Nessa palha determinou-se a densidade de inóculo dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*, quantificando-se o número de conídios/g de palha. Para tal, coletou-se 4 amostras de 50 g de palha as quais foram colocadas em erlenmeyer de 1 L de capacidade contendo 500 mL de água+espalhante (1 gota de Tween 10/ L de água). O material ficou sobre agitação constante durante 5 minutos. De cada amostra retirou-se alíquotas de volume conhecido as quais foram observadas em lâmina microscópica. O número médio de conídios obtidos/mL foi multiplicado por 10 (fator de diluição) para obtenção do número de conídios/g de palha.

Em todos experimentos as armadilhas de esporos utilizadas foram do tipo cata-vento (Reis & Santos, 1985). A coleta de esporos no ar é feita pelo impacto dos propágulos numa lâmina de microscópio, inclinada num ângulo de 45° e protegida da chuva. A lâmina foi untada com uma mistura de vaselina, parafina, fenol e hexano, conforme descrito por Frederickson *et al.* (1989).

Dispersão vertical

O ensaio foi conduzido de janeiro a março de 1996, em uma área de 400 m² (20 m x 20 m), no campo experimental da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária/FAMV-UPF. Nessa área, a vegetação predominante foi de azevém (*Lolium multiflorum* L.) e de aveias branca (*Avena sativa* L.) e preta (*A. strigosa* L.) as quais foram dessecadas pelo uso de herbicida, simulando, dessa maneira, uma área de plantio direto.

As armadilhas de esporos foram colocadas dispostas no centro da área da fonte de inóculo, posicionadas nas seguintes alturas acima da superfície do solo: 12,5, 25, 50, 100 e 200 cm. Para cada altura de coleta foram instaladas três armadilhas, totalizando 15 no experimento.

O delineamento experimental empregado foi de blocos ao acaso com 5 tratamentos e 3 repetições. A distância entre armadilhas dentro do bloco foi de 1 m, e entre os blocos de 2 m.

As avaliações do número de conídios em uma área de 768 mm² de lâmina microscópica foram feitas diariamente em microscópio ótico, removendo-se as lâminas dos coletores às 8:00 h e às 20:00 h durante 62 dias consecutivos, iniciando no dia 20 de janeiro e terminando no dia 21 de março. Desta maneira, procurou-se determinar o período do dia mais favorável à liberação e à dispersão dos conídios dos fungos.

Os dados obtidos foram expressos como número acumulado de conídios de *S. maydis* e de *S. macrospora* durante os 62 dias de avaliação para cada altura e para cada período diário de avaliação. Os resultados foram submetidos ao Teste-t e à análise de regressão.

Também foram monitoradas as condições climáticas durante esse período, como a temperatura mínima, média e máxima, a umidade relativa do ar e a precipitação pluvial, os quais estão envolvidos nos processos de liberação e dispersão do inóculo.

Os experimentos foram conduzidos no campo, nos meses de maio e junho, na Granja Santa Cecília, localizada no município de Coxília, RS, em 1996, e na área experimental da FAMV-UPF, Passo Fundo, RS, em 2000. Os ensaios foram instalados sobre resteva de soja. Os municípios citados encontram-se na Região Fisiográfica do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, com aproximadamente 700 m acima do nível médio do mar (Brasil, 1973).

A distância de transporte horizontal dos conídios pelo vento e/ou movimento aéreo de respingos de gotas d'água contendo inóculo foi determinada com armadilhas de esporos posicionadas, em 1996, a uma distância de 10, 20, 40, 80 e 120 m, e, em 2000, a 10, 20, 40, 60 e 80 m da fonte de inóculo, dispostas na direção norte e sul com a fonte de inóculo no centro. Em 1996, para cada distância foram instaladas três armadilhas espaçadas um metro cada, ambas lado a lado. No ano 2000, instalou-se somente duas armadilhas para cada distância. Todas as armadilhas foram posicionadas 35 cm de altura acima do nível do solo.

As lâminas das armadilhas foram substituídas entre sete a, aproximadamente, quinze dias em 1996, e com um intervalo de dois a três dias em 2000. No laboratório, sobre microscópio ótico, procedeu-se a quantificação do número de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* numa área de lâmina microscópica de 768 mm².

Os dados obtidos foram expressos como número médio de conídios capturados de *S. maydis* e *S. macrospora* para cada distância a partir da fonte de inóculo. Os resultados foram submetidos à análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O monitoramento prévio da presença de *S. maydis* e *S. macrospora* nas áreas experimentais indicou a ausência do inóculo antes da distribuição da palha de milho naturalmente infectada. Confirma-se assim, que a principal fonte de inóculo para *S. maydis* e *S. macrospora* são os restos culturais infectados e que os esporos desses fungos são disseminados pelo vento a curta distância. Com

isto, numa lavoura sem resteva infectada, provavelmente não deve haver inóculo suficiente para causar epidemia de mancha foliar e das podridões do colmo e da espiga no milho. Flett & Wehner (1991), verificaram que a intensidade da podridão da espiga, causada por *S. maydis*, apresentou resposta linear à presença da palha sobre a superfície do solo, apresentando em plantio direto maior intensidade de espigas e de grãos infectados quando comparado com a aração do solo.

Quanto ao tipo de armadilha de esporos utilizada, segundo Ingold (1971), o método de determinação de esporos no ar pelo impacto dos propágulos na lâmina tem mérito quanto sua praticidade, porém, possui pouco valor quantitativo, principalmente, porque as condições de turbulência da atmosfera devem favorecer o impacto de esporos grandes. Como os esporos de *S. maydis* e *S. macrospora* são grandes, a armadilha tipo cata-vento permitiu quantificar eficientemente a dispersão vertical e horizontal dos esporos. Além da captura dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, detectou-se esporos de outras espécies de fungos e grãos de pólen. Os esporos mais frequentemente detectados pertencem aos gêneros *Alternaria*, *Bipolaris*, *Drechslera*, *Erysiphe*, *Fusarium* e *Puccinia*, possivelmente pela grande disponibilidade de restos culturais e plantas voluntárias de cereais de inverno.

Dispersão vertical

A quantidade de palha de milho na área experimental correspondente à fonte de inóculo foi de 256 g de palha/m², com uma densidade de inóculo de 4.818 e 347 conídios/g de palha, respectivamente, para *S. maydis* e *S. macrospora*. Obteve-se assim, 1.233.408 e 88.832 conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, respectivamente, por metro quadrado de área da fonte de inóculo.

Em relação ao período diário de coleta dos conídios, verificou-se nas lâminas removidas às 20:00 h, correspondente à exposição dessas durante o dia, uma captura de 93 % e 88 % dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, respectivamente (Tabelas 1 e 2), indicando diferença significativa entre os

dois períodos de coleta no número total de esporos, considerando as cinco alturas dos coletores. No entanto, considerando somente o número de conídios capturados na altura de 200 cm, para ambos fungos, não se detectaram diferença estatística comparando os períodos de coleta (Tabelas 1 e 2). Mesmo assim, nessa altura ficou demonstrado a captura de 78,5% e 95,4% dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*, respectivamente, às 20:00 h. Para as armadilhas posicionadas a alturas inferiores a 100 cm detectou-se diferença significativa com maior porcentagem no número de conídios coletados para ambos os fungos nas lâminas removidas às 20:00 h (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Número de conídios de *Stenocarpella maydis* coletados às 20:00 h e às 8:00 h em diferentes alturas, durante 62 dias. Passo Fundo, RS. 1996.

Altura (cm)	Hora de remoção das lâminas		Teste-t	Total ^x	Porcentagem (%)	Dias ^y	Média ^z
	20:00	8:00					
12,5	9.522	722	0,000 **	10.244	51,1	50	204,88
25	5.389	148	0,000 **	5.537	27,6	44	125,84
50	1.292	40	0,011 *	1.332	6,7	31	42,96
100	1.739	192	0,037 *	1.931	9,7	23	83,96
200	774	212	0,061 ns	986	4,9	27	36,52
Total	18.716	1.314	0,000 **	20.030	100	--	--

^xNúmero de conídios acumulados durante os 62 dias de avaliação considerando os dois períodos de coleta; ^ynúmero de dias onde detectou-se os conídios; ^znúmero médio de conídios coletados considerando somente os dias onde os conídios foram detectados.

Tabela 2. Número de conídios de *Stenocarpella macrospora* coletados às 20:00 h e às 8:00 h em diferentes alturas, durante 62 dias. Passo Fundo, RS. 1996.

Altura (cm)	Hora de remoção das lâminas		Teste-t	Total ^x	Porcentagem (%)	Dias ^y	Média ^z
	20:00	8:00					
12,5	1.390	280	0,018 *	1.670	40,0	31	53,87
25	882	72	0,018 *	954	22,9	28	34,07
50	552	101	0,022 *	653	15,7	22	29,68
100	471	30	0,040 *	501	12,0	15	33,4
200	373	18	0,055 ns	391	9,4	15	26,07
Total	3.668	501	0,000 **	4.169	100	--	--

^xNúmero de conídios acumulados durante os 62 dias de avaliação considerando os dois períodos de coleta; ^ynúmero de dias onde detectou-se os conídios; ^znúmero médio de conídios coletados considerando somente os dias onde os conídios foram detectados.

A alta proporção de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* capturados durante o dia reflete, possivelmente, as condições climáticas durante o período noturno, onde a umidade do solo e a umidade relativa do ar são maiores, acarretando no aumento do conteúdo de água nos restos culturais. Nessa situação, os picnídios dos fungos presentes sob a epiderme dos tecidos do colmo do milho hidratam-se, determinando, assim, sua maturação, ocasionando a produção e liberação de conídios. Segundo Sutton (1980), os conidióforos de *Stenocarpella* são usualmente ausentes, com conídios produzidos em células conidiogênicas enteroblásticas e fialídicas, formada a partir de células internas da parede do picnídio. No caso de *Stagonospora nodorum* (Berk.) Castellani & E.G. Germano, os conídios são produzidos numa massa mucilaginosa dentro do picnídio. A mucilagem, composta de

proteínas e açúcares (Fournet, 1969), absorve água e intumece quando a umidade relativa atmosférica é alta. No picnídio esse intumescimento resulta na extrusão do cirro de conídios através do ostíolo (Fitt *et al.* 1989). Possivelmente, noites com formação de orvalho prolongado, com deposição d'água sobre os restos culturais do milho, favorecem o aumento do conteúdo de água na palha. Na Região de Passo Fundo, estação meteorológica da Embrapa-CNPT (estação número 83914), localizada a menos de 1,0 Km da área experimental da FAMV, durante o período de coleta dos esporos, a média da umidade relativa do ar às 10:00, 16:00 e 22:00 h, correspondeu, respectivamente aos valores de 82,06, 63,55 e 83,11 % (Apêndice C). Nota-se que nas determinações feitas pela manhã e à noite a média da umidade relativa do ar foi de 82,58 %. Mesmo não se realizando leituras durante a madrugada, presume-se que os valores de umidade relativa do ar sejam maiores. A diferença de 19,03 % entre as leituras feitas pela manhã e à noite, comparadas com a leitura feita à tarde, demonstra que os maiores valores percentuais de umidade relativa do ar foram obtidos no período noturno e nas primeiras horas da manhã, beneficiando dessa maneira, a liberação dos esporos dos picnídios.

Fitt *et al.* (1989), relataram que alguns fungos formadores de picnídios comumente liberam seus conídios na presença de água, com sua posterior dispersão veiculados em respingos de chuva. A dispersão pela chuva ocorre, principalmente, por meio de respingos formados pelo impacto de uma gota numa determinada superfície. Os conídios atingidos pela gota são liberados e dispersados a curtas distâncias. No entanto, nesse experimento, durante os 62 dias de avaliação, verificaram-se 5 situações onde ocorreram 3 dias consecutivos sem haver precipitação pluvial (Apêndice D). Nesses casos, considerando somente os últimos dois dias, ou seja, 24 h ou mais depois da última chuva, também, capturaram-se nas armadilhas conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*. A situação mais marcante ficou evidenciada, por exemplo, no mês de fevereiro, quando do dia 12 até o dia 19 não choveu. Nesse período de tempo capturou-se, diariamente, conídios de *S. maydis*, os quais somados aos capturados após o dia 13 (24 h ou mais após a última chuva) totalizaram 1.261

conídios; enquanto que para *S. macrospora*, capturou-se 194 conídios em 5 dos 8 dias sem chuva. Demonstrou-se, assim, que nesse patossistema não há necessidade de ocorrer precipitações pluviais ou haver presença de água de irrigação por aspersão sobre os colmos infectados para induzir a liberação do cirro e posterior dispersão dos conídios. Fitt & McCartney (1986) e Fitt *et al.* (1989) descreveram que os fungos, dispersos por respingos de gotas de chuva freqüentemente apresentam esporos com parede fina, hialinos, protegidos por mucilagem, sendo produzidos em picnídios, acérvulos e estromas. Ingold (1971) menciona que a dispersão por respingos parece ser essencial para espécies de fungos como *Fusarium* e *Colletotrichum*. A produção de esporos pegajosos em regiões secas ocorre após um umedecimento do estroma, quando a mucilagem associada aos esporos tem tempo para absorver água e intumescer, estando em uma condição efetiva para a dispersão pelo respingo d'água. No caso das duas espécies de *Stenocarpella* os conídios apresentam parede espessa e são escuros, além do que, na bibliografia consultada não se encontrou relato da presença de mucilagem associada aos esporos. Segundo Alexopoulos & Mims (1979), cirro é uma massa cilíndrica de esporos mantida unida à medida que é liberada do ostíolo. É nessa forma que os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* produzem cirros. Dessa maneira, os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* podem ser comparados com alguns fungos da Ordem Sphaeropsidales descritos por Ingold (1971), Fitt & McCartney (1986) e Fitt *et al.* (1989) quanto à necessidade de água para o intumescimento e extrusão do cirro, porém, para a dispersão dos esporos não há necessidade de respingos de chuva, comportando-se como esporos secos.

Segundo Saunders (1930), Smith & White (1988) e Shurtleff (1992), a liberação do inóculo de *S. maydis* e *S. macrospora* é mais intensa com clima úmido e quente, quando os conídios são exsudados dos picnídios formando cirros longos.

A extrusão dos cirros do corpo frutífero também é favorecida pela presença de luz e pelo aumento da temperatura. A formação do picnídio de *Stenocarpella* nos sítios de infecção da planta de milho não depende da

presença da luz, uma vez que podem ser encontrados dentro do sabugo de uma espiga ou na base de grãos colonizados pelo fungo logo após a debulha (McGee, 1988; White, 1999). No entanto, a liberação do cirro do picnídio é estimulada pela presença da luz. Em relação à temperatura, a extrusão dos cirros ocorre mais facilmente numa faixa de temperatura de 30 a 35 °C, tanto para *S. maydis* como para *S. macrospora* (Figuras 9 e 10 - Artigo IV). Como durante a noite as temperaturas do ar são mais baixas, possivelmente, as temperaturas mais elevadas ocorrentes durante o dia favorecem a extrusão dos cirros. Nos 62 dias de condução do experimento verificou-se que a temperatura média do ar às 10:00, 16:00 e 22:00 h foi de 20,71, 26,05 e 20,56 °C, respectivamente (Apêndice C). Nota-se que a temperatura média do ar às 16:00 h foi 5,34 e 5,49 °C mais elevada quando comparada com as obtidas às 10:00 e às 22:00 h, respectivamente, beneficiando a extrusão do cirro.

Além do efeito da radiação solar e da temperatura, a predominância dos ventos também contribui para dispersar o inóculo dos fungos. Segundo De Fina & Ravello (1972), a velocidade do vento sofre uma variação diária, apresentando grande analogia com a variação diária da temperatura. A velocidade do vento é muito menor durante à noite, aumentando desde a saída do sol até pouco depois do meio dia, momento em que alcança o valor máximo, diminuindo até a madrugada. Dessa maneira, o vento constitui agente de dispersão do inóculo dos fungos em dias secos ou em dias com precipitação pluvial, no último caso, auxiliando o movimento aéreo dos respingos de gotas d'água contendo o inóculo (dispersão de esporos de fungos por respingos de chuva e vento).

Com base no exposto, pressupõe-se que o aumento do conteúdo de água no substrato ocorrido durante a noite induz à maturação dos picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* e o intumescimento do cirro. Durante o dia, com a presença da luz solar e aumento da temperatura do ambiente, ocorre mais facilmente a extrusão dos cirros e, conseqüentemente, a dispersão do inoculo, pelo aumento da velocidade do vento, como demonstrado nas maiores

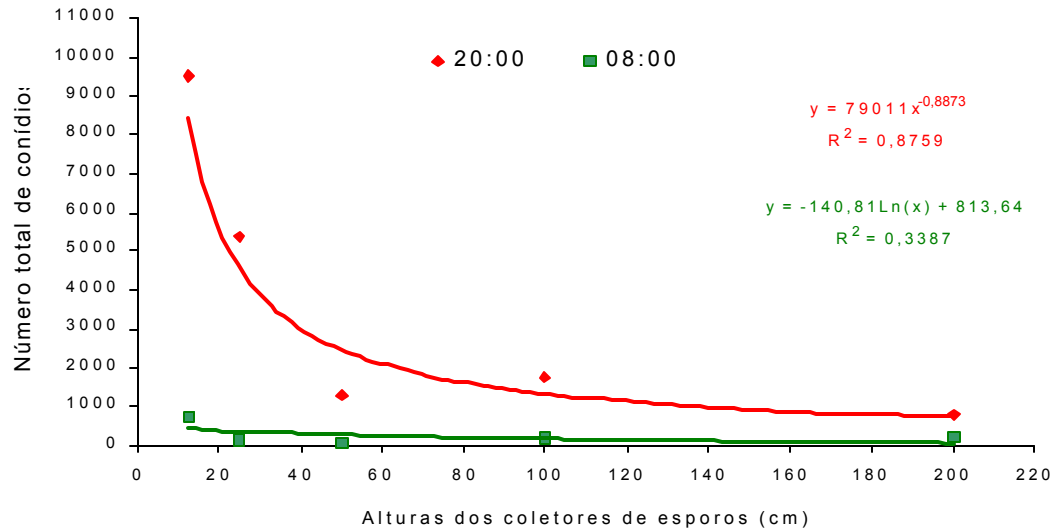
porcentagens de conídios capturados nas lâminas removidas às 20:00 h (Tabelas 1 e 2).

Segundo Fitt *et al.* (1989), muitos patógenos podem ser detectados no ar na ausência de chuvas. A liberação dos esporos dispersados no ar seco mostra uma periodicidade diurna; freqüentemente os esporos são coletados próximo ao meio dia quando a velocidade do vento é maior, a temperatura é mais elevada e a umidade relativa é menor. Deste modo, no caso das espécies de *Stenocarpella*, assume-se que existe necessidade de água líquida para hidratar o picnídio e exsudar o cirro de conídios, porém os fatores climáticos que governam sua dispersão são semelhantes aos de patógenos que produzem conídios sobre conidióforos livremente, ou seja, fora de corpos frutíferos. Aylor (1990), relata que muitos fungos, como por exemplo, *Puccinia* spp., *Ustilago* spp., *Erysiphe* spp. e *Drechslera* spp., são passivamente liberados pelo vento com esporos encontrados em alta concentração na atmosfera durante o dia, freqüentemente alcançando uma máxima concentração próximo ao meio dia quando a velocidade do vento e o nível de turbulência próximo ao solo normalmente é maior.

Em relação às alturas de coleta, o número acumulado de conídios de *S. maydis* durante o dia, com lâmina removida às 20:00 h, diminuiu à medida que a altura dos coletores de esporos aumentou (Figura 1). Durante a noite não foi observada essa tendência (Figura 1). Para *S. macrospora* o número de conídios coletados diminuiu à medida que aumentou a altura dos coletores, tanto de dia como de noite (Figura 2).

Os dados obtidos demonstraram que mais de 60 % dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* foram coletados até a altura de 25 cm (Tabelas 1 e 2). Esses valores ajudam a compreender porque as podridões causadas por *Stenocarpella* em milho apresentam sintomas freqüentes e típicos na base do colmo, normalmente no primeiro e segundo entre-nó. A proximidade com a fonte de inoculo, possivelmente, favorece a inoculação dos fungos na base dos colmos. Cabe salientar que esses sintomas também podem ser evidentes no final do ciclo da cultura caso ocorra a transmissão dos fungos da semente para

a planta (McGee, 1988; Casa *et al.*, 1998). Com altura superior a 50 cm verificou-se uma coleta de 20 a 30 % dos conídios para ambos os fungos, indicando redução de mais de 50 %, comparado a altura de até 25 cm. Possivelmente, o tamanho e o peso dos conídios e/ou do cirro inteiro liberado do picnídio, ou a altura do respingo do impacto da gotícula d'água sobre o



corpo frutífero contendo o inoculo, não permitam que sejam capturados abundantemente a alturas superiores a 25 cm da fonte de inóculo.

Figura 1. Relação entre o número de conídios coletados de *Stenocarpella maydis* e altura dos coletores em dois períodos diários de coleta, durante 62 dias. Passo Fundo, RS. 1996.

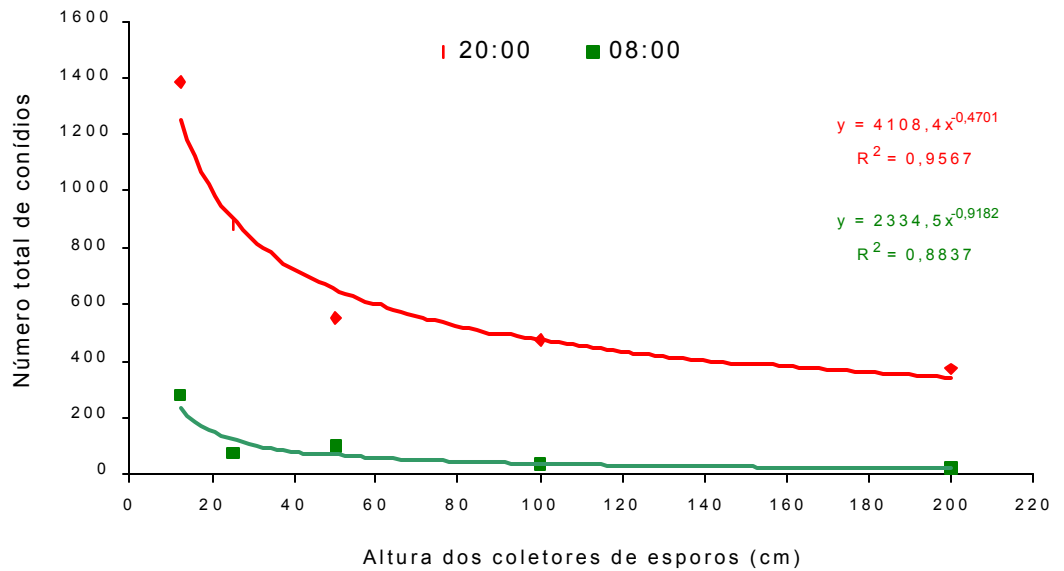


Figura 2. Relação entre o número de conídios coletados de *Stenocarpella macrospora* e altura dos coletores em dois períodos diários de coleta, durante 62 dias. Passo Fundo, RS. 1996.

Brennan *et al.* (1985), estudando as características de dispersão por respingos de gotas d'água do fungo *S. nodorum*, demonstrou que gotas de 5 mm de diâmetro contendo esporos do fungo não são transportadas pelo vento a mais de 40 a 50 cm de altura. Por outro lado, em ensaios de campo, durante período de chuva, os conídios de *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton (Fitt & Bainbridge, 1983) e *S. nodorum* (Faulkner & Colhoun, 1976) foram coletados 0,7 e 1,0 m, respectivamente, acima de palha infectada. Tais esporos são liberados pelas gotas da chuva e então transportados pelo vento.

Os conídios de *Stenocarpella* capturados acima de 50 cm de altura possivelmente são responsáveis por uma das vias de inoculação dos fungos nas espigas, causando a podridão da base da espiga. Nessa situação, na lavoura, os conídios dispersos pelo vento são depositados pela força gravitacional na bainha foliar. Mário *et al.* (1998), determinaram que os esporos produzidos nos restos culturais foram responsáveis pela infecção de grãos de milho no campo. Na presença de água os esporos germinam e iniciam

o processo de penetração direta do tecido vegetal que envolve a palha da espiga em formação (Chambers, 1988; Bensch, 1995). Os conídios de *S. macrospora* coletados 50 cm acima da fonte de inóculo, provavelmente são responsáveis pela infecção das folhas do milho, causando sintoma de mancha foliar.

Segundo Fitt *et al.* (1989), nos dias com chuva os conídios transportados no ar são liberados pelo impacto da gota e então dispersos pelo vento, podendo ser importante na disseminação dos patógenos a longas distâncias, mas não é sabido se permanecem viáveis durante a dispersão. A viabilidade dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* não foi determinada nesse ensaio. Entretanto como seus conídios são ricos em melanina são mais difíceis de perderem a viabilidade, além disso, a frequência de dias em que os esporos *S. maydis* e *S. macrospora* foram capturados (Tabelas 1 e 2), possibilita prever que as unidades de dispersão podem alcançar com maior facilidade os sítios de infecção da planta hospedeira. Outro detalhe fundamental é o processo de produção de conídios e extrusão dos cirros, que ocorre várias vezes na natureza, quando as condições ambientais forem favoráveis. À semelhança de outros fungos do milho, como por exemplo, *Gibberella zeae* (Schw.) Petch, que recarregam seus corpos frutíferos após a liberação dos ascosporos, os picnídios de *Stenocarpella* podem ser recarregados e, portanto, produzirem inóculo constantemente. Em laboratório, os picnídios de *S. maydis* e *S. macrospora* quando mantidos em câmara úmida a 25 °C de temperatura e fotoperíodo de 12 h, extrudaram os cirros diariamente durante dez dias (Capítulo III). Tal fato favorece a produção de esporos em grande quantidade, e pode manter, também, o inóculo viável durante longo período de tempo.

Apesar dos conídios de *S. macrospora* serem duas a três vezes maiores (41-89 x 6-12,5 µm) do que os de *S. maydis* (15-34 x 4-8 µm) (Sutton & Waterston, 1966a,b; Casa, 1997) (Apêndice A), os esporos de *S. macrospora* foram capturados em porcentagem superior nas alturas acima de 50 cm quando comparado com a captura de *S. maydis* (Tabelas 1 e 2). O fato da

captura de conídios nessas alturas, aliado à presença de conídios isolados (não agrupados como quando em cirros) tanto de *S. maydis* como *S. macrospora* capturados e observados em diferentes pontos das lâminas sob microscópio, tem demonstrado que a dispersão anemófila dos conídios pode ocorrer livremente no ar, não necessitando estar veiculado a gotículas d'água. Em algumas situações tem-se observado em lupa estereoscópica, com aumento de 40 a 50 vezes, conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* isolados aderidos à palha de milho, mais precisamente próximo ao local onde o picnídio emergiu. Provavelmente isso decorra após um período de molhamento onde a mucilagem que envolve os conídios no cirro se dissolve permitindo que os esporos formem uma fina camada sobre a superfície do hospedeiro (Fitt *et al.*, 1989). A presença desses conídios após um período de secamento da superfície da palha pode, portanto, constituir-se em unidade de dispersão do inóculo. A mucilagem que envolve os conídios protege-os da dessecação e da perda da viabilidade durante clima seco, até que ocorra a presença de água líquida disponível para a sua germinação.

Analisando-se o número total de conídios acumulados para ambas espécies de *Stenocarpella* (Tabelas 1 e 2), verificou-se que 82,7 % dos conídios capturados foram de *S. maydis*. Convém lembrar que os conídios de *S. maydis* são 2 a 3 vezes menores do que os de *S. macrospora* e que a densidade de inóculo de *S. maydis* nos restos culturais correspondeu a 93,3 %. Além disso, deve-se considerar a frequência do número de dias onde se detectou a coleta dos conídios, sendo maior para *S. maydis* (Tabelas 1 e 2).

Dispersão horizontal

Em 1996 a área correspondente à fonte de inóculo foi de 36 m² (6 x 6 m), apresentando 257 g de palha/m² e uma densidade de inóculo de 801 e 284 conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* respectivamente/ g de palha. No ano de 2000 a área da fonte de inóculo foi de 6,25 m² (2,5 x 2,5 m), apresentando 208

g de palha/m², com 601 e 332 conídios de *S. maydis* e *S. macrospora*/g de palha, respectivamente.

Na Tabela 3 e Figura 3, estão relacionados o número de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* coletados no ano de 1996 em função da distância das armadilhas da fonte de inóculo. Os dados obtidos demonstraram que os esporos dos fungos foram capturados nas armadilhas até uma distância de 120 m da fonte de inóculo. As armadilhas de esporos localizadas no centro da fonte de inóculo capturaram as maiores quantidades de conídios. Nas distâncias de 10 a 80 m da fonte de inóculo capturou-se um número semelhante de esporos; tendo-se coletado a menor quantidade na distância de 120 m (Tabela 4 e Figura 4).

No ano de 2000 os esporos de *S. maydis* foram capturados até uma distância de 80 m, sendo que *S. macrospora* foi detectado somente até 60 m da fonte de inóculo. Novamente, a maior quantidade de esporos foi capturada nas armadilhas localizadas na fonte de inóculo, sendo que nas distâncias de 10 a 40 m e de 10 a 20 m dos resíduos culturais infectados capturou-se um número semelhante de esporos de *S. maydis* e *S. macrospora*, respectivamente. Nenhum esporo de *S. macrospora* foi coletado à 80 m de distância da fonte de inóculo (Tabela 4 e Figura 4).

Tabela 3. Número médio de conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*, depositados por unidade de área (768 mm²), em lâmina microscópica, nas armadilhas de esporos dispostas à distância crescentes da fonte de inóculo, no ano de 1996.

Distância a (m)	<i>Stenocarpella maydis</i> (conídios - n ^o)						<i>Stenocarpella macrospora</i> (conídios - n ^o)					
	12/05	19/05	08/06	18/06	30/06	Total ^y	12/05	19/05	08/06	18/06	30/06	Total ^y
0 (fonte)	6,7 ^x	1,0	3,3	1,3	28,3	40,6	6,0	0,7	0,7	0,3	2,3	10,0
10	4,0	5,7	1,0	4,0	3,0	17,7	1,7	1,7	0	0,7	1,0	5,1
20	6,7	1,0	0	1,3	1,3	10,3	1,0	2,3	1,0	0,3	0,3	4,9
40	6,3	1,0	0,3	4,7	0	12,3	1,3	0,7	0	1,0	0,3	2,9

80	5,0	5,0	0	3,7	1,7	15,4	1,0	0,3	0,3	0,7	0,3	2,6
120	0	0	0	0	0,7	0,7	0	0	0	0	0,3	0,3

^xMédia de três repetições; ^yTotal de conídios acumulados

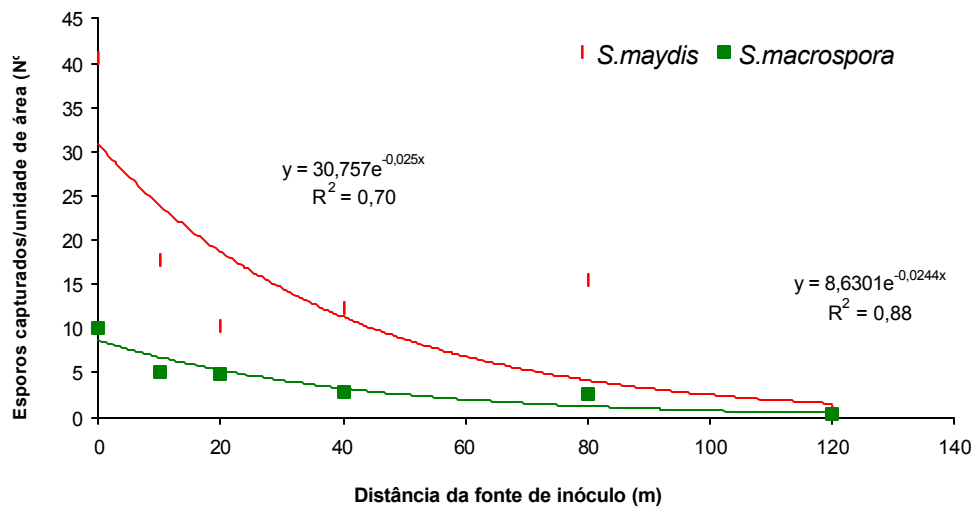


Figura 3. Gradiente do número de conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*, coletados por unidade de área (768 mm²), em função da distância da fonte de inóculo, no ano de 1996.

Tabela 4. Número médio de conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*, depositados por unidade de área (768 mm²), em lâmina microscópica, nas armadilhas de esporos dispostas à distância crescentes da fonte de inóculo, no ano de 2000.

Distância (m)	<i>Stenocarpella maydis</i> (conídios - n°)								<i>Stenocarpella macrospora</i> (conídios - n°)							
	24/5	26/5	29/5	2/6	5/6	7/6	9/6	Total ^y	24/5	26/5	29/5	2/6	5/6	7/6	9/6	Total ^y
0	0 ^x	2,0	7,5	2,	4,	0	0	16,0	2,0	0	2,5	3,	2,	1,	2,	13,5
(fonte)				0	5							5	5	5	5	

10	0	0	20	0	3,	1,	0	6,5	0,5	0	0	0,	0,	1,	1,	4,0
					0	5						5	5	5	0	
20	0	0	5,5	0	0,	1,	0	7,0	0	0	3,5	1,	1,	0	0	6,0
					5	0						0	5			
40	0	0	0	3,	0	1,	0	4,5	0	0	1,0	0	0	0,	0	1,5
					5	0								5		
60	0	1,0	0	0	0	0,	0	1,5	0	0	1,5	0	0,	0	0	2,0
						5								5		
80	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0

^xMédia de duas repetições; ^yTotal de conídios acumulados

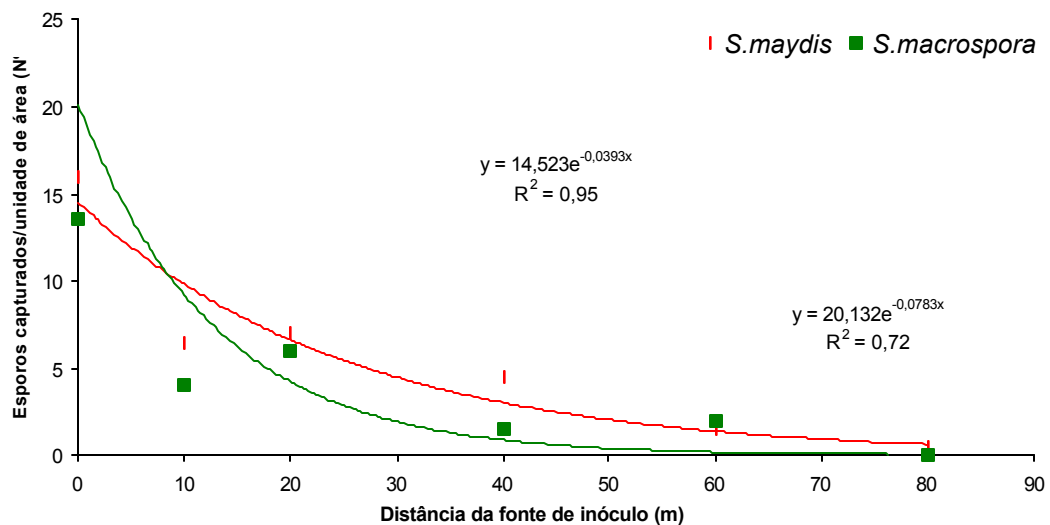


Figura 4. Gradiente do número de conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*, coletados por unidade de área (768 mm²), em função da distância da fonte de inóculo, no ano de 2000.

De modo geral, os dois experimentos demonstraram que a concentração de esporos coletados foi inversamente proporcional a distância horizontal da

fonte de inóculo. Apesar de ter-se capturado esporos distantes 80 e 120 m da palha infectada (Tabela 1 e 2), presume-se, considerando a frequência e o pequeno número de esporos coletados, que dificilmente seriam suficientes para causar epidemia da podridão do colmo causada por *Diplodia*, podridão branca da espiga e mancha foliar de *Diplodia* em lavouras posicionadas a mais de 80 m da fonte de inóculo.

A captura de conídios na distância de 120 m e a maior frequência e número de conídios coletados a 80 m da fonte de inóculo, no ano de 1996, pode estar relacionada ao maior tamanho da área da fonte de inóculo e ao maior intervalo de tempo entre a troca das lâminas das armadilhas no campo.

Com base no ensaio de dispersão vertical, ressalva-se que os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* necessitam de água para o intumescimento e extrusão do cirro, no entanto a dispersão dos esporos não necessita de respingos de chuva. Em 1996 a captura dos conídios foi realizada num período de aproximadamente 55 dias, com cinco avaliações, coincidindo com períodos de dias chuvosos e com dias sem haver precipitação pluvial. No ano de 2000 a captura foi monitorada durante 18 dias, com sete avaliações. Naqueles dias onde a chuva perdurou durante horas, pode ter havido dispersão horizontal por respingos principalmente para as armadilhas posicionadas sobre a fonte de inóculo e naquelas distâncias menores. Segundo Madden (1997), a distância de transporte de conídios por respingo é muito curta, geralmente menor que 15 cm, e por tanto, a deposição dos esporos num sítio de infecção é o resultado de uma seqüência contínua de respingos sobre a superfície do solo ou cobertura do solo e através do dossel. Geralmente, os esporos de fungos produtores de mucilagem não estão presentes no ar, exceto durante chuva ou irrigação. Os esporos dos fungos *Pseudocercospora herpotrichoides* Fron (Deighton) e *Septoria nodorum* (Berk.) Berk foram coletados durante chuva e poucos foram dispersos a mais de 1 m de distância ou 50 cm acima da fonte de inóculo (Fitt *et al.*, 1989). Distâncias de 5 a 10 m foram relatadas para a dispersão de conídios por respingos de chuva dos fungos *Ascochyta pisi* Lib. (Hewet, 1973) e *S. nodorum* (Griffiths & Hann, 1976). Nesses exemplos, o inóculo dos

fungos estava veiculado a gotículas d'água e, possivelmente, a turbulência e as rajadas de vento forte facilitaram sua dispersão.

Madden (1997), salienta que a dispersão dos esporos por respingos de chuva tem sido pouco estudada se comparada com a dispersão pelo vento. No entanto, nos trabalhos de dispersão horizontal de *S. maydis* e *S. macrospora*, devido ao tipo de armadilha utilizada e distâncias monitoradas, tornou-se mais evidente que os esporos foram transportados livremente pelo vento até serem capturados pelo impacto nas lâminas das armadilhas. Além disso, durante os dias 31 de maio e 4 de junho de 2000 não choveu, e mesmo assim os esporos dos fungos foram capturados, prova que não necessita do veículo água. Tal fato também foi demonstrado na dispersão vertical, quando os esporos de *S. maydis* e *S. macrospora* foram capturados no ar, não veiculados a gotículas d'água, individualmente ou agrupados em cirro, até uma altura de 2 m acima da fonte de inóculo.

Os resultados obtidos em 1996 sugerem que lavouras conduzidas em rotação de culturas, distantes acima de 120 m dos restos culturais infectados, podem ou não apresentar menor incidência das podridões do colmo e da espiga causada por *Stenocarpella*. A mancha foliar causada por *S. macrospora* possivelmente apresentará a mesma resposta em relação a sua ocorrência e intensidade. Logicamente, o efeito barreira das plantas de milho ou de outras espécies vegetais pode contribuir ainda mais para reduzir a distância de transporte do inóculo. Ullstrup (1964) e Del Río & Melara (1991), demonstraram que a intensidade da podridão da espiga causada por *S. maydis* relaciona-se inversamente à distância da fonte de inóculo. Ullstrup (1964) relatou incidência da podridão de 49 a 61 % em lavoura localizada ao lado da fonte de inóculo, com redução da incidência para 1 % em plantas localizadas até 16 m da fonte de inóculo. Del Río & Melara (1991) relataram redução de 80 % na podridão da espiga em plantas distantes 20 metros da palha infectada.

Como os esporos de *S. macrospora* são duas a três vezes maiores do que os de *S. maydis*, provavelmente, a distância de transporte dos conídios de *S. macrospora* pelo vento, a partir dos restos culturais infectados no campo,

seja menor. Nas Tabelas 1 e 2, verifica-se que o número total de conídios de *S. macrospora* capturados em praticamente todas as distâncias foi menor do que os de *S. maydis*, contudo convém lembrar que a densidade de inóculo de *S. macrospora* na resteva também era menor.

CONCLUSÕES

Na ausência dos resíduos culturais do milho sobre o solo não foram coletados esporos de *S. macrospora* e *S. maydis* no ar.

Os restos culturais do milho são importante fonte de inóculo primário para os fungos *S. macrospora* e *S. maydis*.

A liberação do cirro dos picnídios de *S. macrospora* e *S. maydis* ocorreu principalmente no período noturno, quando a umidade relativa do ar e o conteúdo de água na palha foram mais elevados.

O estímulo do ambiente responsável pela maturação dos picnídios foi a umidade relativa do ar elevada e/ou a presença de água líquida, na forma de chuva, com reflexo no aumento do conteúdo de água do substrato.

A liberação do cirro de conídios ocorreu mais facilmente com o aumento da temperatura do ar e na presença da luz solar.

A dispersão dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* predominou durante o dia com maior ocorrência de ventos. Os esporos podem ser dispersos livremente no ar, não necessitando ser veiculado a gotículas d'água, sendo capturados isoladamente ou agrupados na forma de cirro.

O número de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* capturados no ar foi inversamente proporcional à distância vertical e horizontal da posição das armadilhas da fonte de inóculo e proporcional a disponibilidade do inóculo de ambas as espécies presentes nos restos culturais.

O controle de *S. macrospora* e *S. maydis* pode ser feito pela semeadura do milho em lavouras de rotação de culturas distantes no mínimo 120 m de restos culturais infectados da safra anterior e/ou de áreas vizinhas com a presença dos resíduos culturais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXOPOULOS, C.J. & MIMS, C.W. Introductory mycology. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons. 1979. 646p.
- AYLOR, D.E. The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 28: 73-92. 1990.
- BENSCH, M.J. *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton colonization of maize ears. *Journal of Phytopathology* 143: 597-599. 1995.
- BRASIL. Levantamento e reconhecimento dos solos do Rio Grande do Sul. Recife: Ministério da Agricultura. 1973. 431p. (Boletim Técnico, 30).
- BRENNAN, R.M., FITT, B.D.L., TAYLOR, G.S. & COLHOUN, J. Dispersal of *Septoria nodorum* pycnidiospores by simulated rain in still air. *Phytopathologische Zeitschrift* 112:281-290. 1985.
- CASA, R.T. *Diplodia maydis* e *Diplodia macrospora* associados à semente de milho. Dissertação de Mestrado. UFV, Viçosa, MG. 1997.71p.
- CASA, R.T., ZAMBOLIM, L. & REIS, E.M. Transmissão e controle de diplodia em sementes de milho. *Fitopatologia Brasileira* 23: 436-441. 1998.
- CHAMBERS, K.R. Effect of time of inoculation on *Diplodia* stalk and ear rot of maize in South Africa. *Plant Disease* 72: 529-531. 1988.
- DE FINA, A. L. & RAVELLO, A.C. *Climatología y fenología agrícolas*. Eudeba, Editorial Universitária de Buenos Aires. 1972. 281p.

- DEL RÍO, L. & MELARA, W. Dispersion de *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton en un cultivo de maíz. Ceiba 32: 133-140. 1991.
- FAULKNER, M.J. & COLHOUN, J. Aerial dispersal of picnidiospores of *Leptosphaeria nodorum*. Phytopathologische Zeitschrift 86: 357-360. 1976.
- FITT, B.D.L. & BAINBRIDGE, A. Dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from infected wheat straw. Phytopathologische Zeitschrift 106: 177-182. 1983.
- FITT, B.D.L. & McCARTENEY, H.A. Spore dispersal in splash droplets. In: Ayres, P.G. & Boddy, L. (eds). Water, fungi and plants. Cambridge University Press, Cambridge. 1986. p.87-104.
- FITT, B.D.L., McCARTENEY, H.A. & WALKATE, P.J. The role of rain in dispersal pathogen inoculum. Annual Review of Phytopathology 27: 241-270. 1989.
- FLETT, B.C. & WEHNER, F.C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. Journal of Phytopathology 133:327-333. 1991.
- FLETT, B.C., WEHNER, F.C. & SMITH, M.F. Relationship between maize stubble placement in soil and survival of *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*). Journal of Phytopathology 134:33-38. 1992.
- FOURNET, J. Propriétés et rôle du cirrhe du *Septoria nodorum* Berk. Annual Phytopathology 1: 87-94. 1969.

- FREDERICKSON, D.E., MANTLE, P.G. & DE MILLIANO, W.A.J. Secondary conidiation of *Sphacelia sorghi* on sorghum, a novel factor in the epidemiology of ergot disease. *Mycological Research* 93: 497-502. 1989.
- GRIFFITHS, D.C. & HANN, C.A.O. Dispersal of *Septoria nodorum* spores and spread of glume blotch of wheat in the field. *Transactions of the British Mycological Society* 67: 413-418. 1976.
- HEWETT, P.D. The field behaviour of seedborne *Ascochyta fabae* and disease control in field beans. *Annals of Applied Biology* 74: 287-295. 1973.
- INGOLD, C.T. *Fungal spores: Their liberation and dispersal*. Clarendon Press. Oxford University Press, Ely House. London. 1971. 302p.
- JOHANN, H. *Diplodia macrospora* em milho no Brasil. *Plant Disease* 19: 9-10. 1935
- MADDEN, L.V. Effects of rain splash dispersal of fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19: 225-230. 1997.
- MARASAS, W.F.O. & VAN DER WESTHUIZEN, G.C.A. *Diplodia macrospora*: the cause of leaf blight and cob rot of maize (*Zea mays*) in South Africa. *Phytophylactica* 11: 61-64. 1979.
- MÁRIO, J.L., REIS, E.M. & SEVERO, R. Quantificação do inóculo de *Diplodia macrospora* e de *D. maydis* em restos culturais, no ar e sua relação com a infecção em grãos de milho. *Fitopatologia Brasileira* 23: 301. 1998.

- McGEE, D.C. Maize diseases: A reference source for seed technologists. St. Paul: The American Phytopathological Society. 1988. 150p.
- RAM, A., RAM, C. & ROCHA, H.M. A new disease of maize in Bahia, Brazil, with special reference to its causal organism. Turrialba 23: 227-230. 1973.
- REIS, E.M. & CASA, R.T. Manual de identificação e controle de doenças de milho. Passo Fundo. Aldeia Norte Editora, 1996. 80p.
- REIS, E.M. & SANTOS, H.P. dos. População de *Helminthosporium sativum* no ar através de uma armadilha tipo cata-vento. Fitopatologia Brasileira 10:515-519. 1985.
- SAUNDERS, A.R. Maize in South Africa. Cental News Agency. 1930. 284p. (South African Agricultural Series, 7).
- SHURTLEFF, M.C. Compendium of corn diseases. American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 1992. 105p.
- SMITH, D.R. & WHITE, D.G. Disease of corn. In: Sprague, G.F. & Dudley Y.W. Corn and Corn Improvement. 3.ed. 1988. p.687-766. (Agronomy Monograph, 18)
- SUTTON, B.C. The coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1980. 696p.
- SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Diplodia maydis*. London: C.M.I., 1966a. (Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, 84).

SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Diplodia macrospora*. London: C.M.I., 1966b. (Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, 83).

ULLSTRUP, A.J. Observations on two ephiphytotics of *Diplodia* ear rot of corn in Indiana. *Plant Disease* 48:414-415. 1964.

WHITE, D.G. Compendium of corn diseases. Third Edition. American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 1999. 128p.

CAPÍTULO III

EFEITO DA TEMPERATURA E DO REGIME LUMINOSO NO CRESCIMENTO DO MICÉLIO, GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS E LIBERAÇÃO DO CIRRO DE *STENOCARPELLA MACROSPORAE* *STENOCARPELLA MAYDIS*

RESUMO

Determinaram-se, em condições controladas, o efeito da temperatura e do período luminoso no crescimento do micélio, na germinação de esporos e na liberação do cirro de conídios *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*. Os isolados fúngicos foram obtidos de colmos de milho naturalmente infectados. Na amplitude de 5 a 45 °C, a faixa de temperatura entre 23 e 28 °C proporcionou o maior crescimento micelial de *S. macrospora* e *S. maydis* tanto sob luz contínua como sob fotoperíodo de 12 h. Para ambos os fungos não se observou crescimento do micélio em temperatura inferior a 10 °C e superior a 40 °C. Considerando o regime luminoso, constatou-se que o micélio dos fungos cresceu mais rapidamente sob fotoperíodo de 12 h. Os conídios de *S. macrospora* e *S. maydis* não germinaram após 24 h de incubação nas temperaturas de 5 e 45 °C, independente do fotoperíodo. As temperaturas entre 28 e 33 °C propiciaram a maior porcentagem de germinação dos conídios de *S. maydis*, enquanto que para *S. macrospora* a germinação ocorreu com temperatura mais baixa, numa faixa de 26 a 29 °C. Os esporos de ambas as espécies germinaram mais rapidamente na presença da luz. A liberação do

cirro, através do ostíolo do picnídio em pedaços de colmos de milho, foi maior na faixa térmica de 30 a 35 °C, sob luz contínua, tanto para *S. macrospora* como *S. maydis*.

Palavras-chave: desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, fotoperíodo, podridão de diplodia,

ABSTRACT

Effect of temperature and light period at micelial growth, spore germination and extrusion that cirri of the *Stenocarpella macrospora* and *Stenocarpella maydis*

Micelial growth, spore germination and the conidia extrusion from cirri of the *Stenocarpella macrospora* and *S. maydis* were studied under controlled conditions of temperature and light period. The fungi isolates were obtained from naturally infected corn stalk. In the temperature limits from 5 to 45 °C, the range between 23 e 28 °C provided the greatest mycelial growth of the *S. macrospora* and *S. maydis*, both for continuous light and for 12 h photoperiod. It was not observed mycelial growth in temperature below 10 °C and above 40 °C for both fungi. Taking into consideration the effect of light, it was verified that mycelium grows more rapidly under photoperiod of 12 h than under photoperiod. Conidia of both *S. macrospora* and *S. maydis* did not germinate after 24 h of incubation at the temperatures limits of 5 and 45 °C, independently of photoperiod. The highest spore germination for *S. maydis* happened at the temperatures between 28 and 33 °C. On the other hand spores of *S. macrospora* germinated under lower temperature, in a range of 26 to 29 °C. The spores of both species germinated more rapidly in the presence of light. The extrusion of cirri through pycnidium ostiole, in corn stalk segments, was the highest in the temperature range from 30 to 35 °C under continuous light for both species.

INTRODUÇÃO

Os fungos *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton [Sin. *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc.; *D. zae* (Schw.) Lev.] e *S. macrospora* (Earle) Sutton [Sin. *D. macrospora* Earle in Bull.] (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; White, 1999) causam podridão do colmo e da espiga em plantas de milho. O fungo *S. macrospora* também pode causar sintoma de mancha foliar (Ram *et al.*, 1973; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979).

A infecção dos colmos e das espigas ocorre, em geral, após o período de polinização das plantas de milho (Hooker, 1957; Chambers, 1988; Bensch, 1995). A espécie *S. macrospora* parece ser mais restrita a regiões com clima tropical em áreas quentes e úmidas (Sutton & Waterston, 1966b; Marasas & Van Der Westhuizen, 1979), enquanto que *S. maydis* encontra-se amplamente distribuída onde se cultiva o milho (Sutton & Waterston, 1966a).

A intensidade das podridões de diplodia é maior nas lavouras onde os restos culturais do milho estão presentes (Ullstrup, 1964; Flett & Wehner, 1991). Nos restos culturais, constituídos principalmente por colmos, os fungos sobrevivem saprofiticamente (Flett *et al.*, 1992), produzindo picnídios e liberando conídios em cirros que representam a principal fonte de inóculo primário. Os conídios são transportados pelo vento e/ou respingos de chuva até os sítios de infecção (White, 1999).

O clima quente e úmido, com temperaturas entre 28 e 30 °C, duas a três semanas após a polinização das plantas de milho, favorece o desenvolvimento dos fungos e o processo infectivo (Shurtleff, 1992; White, 1999). Segundo Bensch & Van Staden (1992), os conídios de *S. maydis* germinam nos tecidos da planta após 5 h de incubação a 30 °C. Apesar da podridão do colmo de diplodia, podridão branca da espiga e mancha foliar de diplodia ocorrer em áreas quentes e úmidas, pouca informação foi encontrada na literatura consultada em relação às amplitudes térmicas e o regime de luz favorável ao crescimento do micélio e germinação dos esporos de *S. maydis* e *S. macrospora* em laboratório, assim como a respeito da extrusão do cirro de

conídios do picnídio formado no tecido vegetal senescido. Na maioria dos trabalhos foram estudados os efeitos das interações entre temperatura, fotoperíodo e componentes do meio de cultura para isolamento, cultivo, multiplicação e produção de inóculo para inoculações (Marasas & Van Der Westhuizen, 1979; Latterel & Rossi, 1983; Bensch & Van Staden 1992; Morant *et al.* 1993).

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito do limite térmico e do regime luminoso sobre o crescimento do micélio e germinação de esporos de *S. macrospora* e *S. maydis* em meio de cultura, bem como a temperatura favorável à extrusão do cirro através do ostíolo do picnídio formado em colmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados monospóricos de *S. maydis* e *S. macrospora*, obtidos de colmos de milho naturalmente infectados, foram cultivados e preservados em meio de cultura de BSA + A (140 g batata, 15 g de sacarose, 12 g de ágar + 15 gotas de quemicitina solúvel (cloranfenicol 52,5 mg/mL). Semanalmente os isolados foram repicados para manutenção de colônias puras e jovens.

Foram conduzidos ensaios avaliando-se o crescimento do micélio e a germinação dos conídios dos fungos em diferentes graus de temperatura sob dois regimes luminosos. As temperaturas avaliadas foram 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45 °C. Nas avaliações do crescimento miceliano o regime luminoso compreendeu ensaio com luz contínua (24 h) e com fotoperíodo de 12 h, neste iniciando com as primeiras 12 h sob luz. Nos ensaios de germinação de conídios os regimes luminosos compreenderam períodos de luz e escuro contínuo. A liberação do cirro dos picnídios foi determinada com temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, sob luz contínua e durante 12 h.

Todos os ensaios foram conduzidos em câmaras de germinação tipo B.O.D. (Marconi - MA 402), com alternância de temperatura, contendo quatro lâmpadas Philips 15 W/75 (luz do dia), distantes 15 cm das placas de Petri.

Crescimento do micélio

O crescimento do micélio das espécies *S. maydis* e *S. macrospora* foi quantificado em placas plásticas de Petri de 80 mm de diâmetro contendo meio de cultura de BSA + A, a partir de discos de micélio de 7 mm de diâmetro, repicados de colônias jovens (5 dias de idade), colocados no centro de cada placa. As placas foram incubadas nas B.O.Ds nas respectivas temperaturas e regimes luminosos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. As avaliações foram realizadas de 12 em 12 horas até que micélio do fungo atingisse o bordo da placa em uma das temperaturas. Os dados obtidos do crescimento do micélio de *S. maydis* e *S. macrospora* foram plotados em função do tempo e da temperatura em uma representação tridimensional, por meio de superfície de resposta, utilizando o programa Statistica, que fornecerá informações sobre a temperatura ótima e a faixa de temperatura ideal em cada regime luminoso.

Germinação de conídios

Os conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* foram obtidos de cirros de picnídios produzidos em colmos de milho colonizados no laboratório. Segmentos de 3-5 cm de colmos foram colocados em erlenmeyers de 500 mL de capacidade e embebidos em água durante 24 h, com posterior remoção do excesso d'água e esterilização desses por meio de duas autoclavagens (20 min a temperatura de 125 °C com intervalo de 24 h entre cada autoclavagem). Após, colocou-se em cada erlenmeyer 10 discos de micélio do isolado monospórico das espécies de *Stenocarpella*. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento a temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h, durante 10 dias, até a completa colonização dos colmos com abundante crescimento miceliano. Os colmos colonizados foram colocados em caixas gerbox contendo em seu interior uma camada de 1 cm de areia de rio lavada e esterilizada. As caixas foram mantidas na sala de crescimento por um período de 10-15 dias até a formação dos picnídios nos tecidos dos colmos. A esporulação dos fungos foi induzida em câmara úmida durante 24 h com produção de cirro através dos

picnídios. Com o auxílio de agulha histológica flambada, transferiu-se cerca de 20 cirros para um erlenmeyer contendo água destilada e estéril (100 mL de água + 1 gota de espalhante Tween 10). A mistura foi agitada constantemente para manter os esporos em suspensão. Posteriormente, pipetou-se 1,0 mL da suspensão para placas de Petri contendo ágar-água a 1%. As placas foram incubadas nas B.O.Ds nas temperaturas e fotoperíodos pré-determinados. A germinação dos conídios foi observada em microscópio ótico, com magnitude de 100 vezes, considerando-se uma média de 30 conídios por unidade experimental. Para cada temperatura foram observadas quatro placas quantificando-se a germinação 1, 2, 3, 4, 5, 10, 18 e 24 h após a incubação. Considerou-se germinado aquele conídio com tubo germinativo maior igual que a maior largura do esporo. Os dados obtidos foram expressos em porcentagem de conídios germinados para cada temperatura e fotoperíodo, sendo plotados em função do tempo de incubação em uma representação tridimensional.

Liberação do cirro

A liberação do cirro de conídios através do ostíolo do picnídio dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora* foi determinada em colmos de milho colonizados no laboratório com método semelhante ao descrito no ensaio de germinação dos conídios. Após a formação dos picnídios, quatro colmos foram acondicionados em caixa gerbóx contendo duas camadas de papel filtro umedecidos com 10 mL de água para manutenção de câmara úmida (ambiente saturado). As caixas foram acondicionadas nas B.O.Ds nas temperaturas e fotoperíodo pré-determinado. Para cada temperatura foram avaliados 12 colmos. A extrusão do cirro foi determinada 2, 4, 6 e 12 h após a incubação dos colmos, observando-se a presença do cirro sob lupa estereoscópica, com magnitude de 25 vezes, em cinco picnídios previamente marcados por colmo. Os dados obtidos também foram expressos em uma representação tridimensional.

Em ensaio visando determinar a liberação diária dos cirros de *S. maydis* e *S. macrospora* foi conduzido com pedaços de colmos de milho mantidos em câmara úmida a 25 °C de temperatura com fotoperíodo de

12 h durante 10 dias. Uma vez por dia os cirros liberados de alguns picnídios, previamente marcados nos colmos, foram removidos com o auxílio de um pincel. O objetivo foi observar se os picnídios novamente formariam cirros.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento do micélio

Os resultados do efeito da temperatura e do período luminoso no crescimento do micélio de *S. maydis* e *S. macrospora* constam nas Figuras 1, 2, 3 e 4. Salienta-se que nesse experimento não foram feitas comparações de isolados fúngicos e de meios de cultura.

Independentemente do fotoperíodo empregado, não se observou crescimento miceliano de ambos fungos nas temperaturas mais baixas (5 e 10 °C) e tampouco nas mais elevadas (40 e 45 °C). Considerando os períodos de luminosidade foi observado que o crescimento do micélio tanto de *S. maydis* como *S. macrospora* foi mais rápido com fotoperíodo de 12 h, sendo que, as colônias dos fungos atingiram os bordos das placas de Petri 12 h antes, quando comparadas com as submetidas ao período de luz contínua.

Com base nos valores estimados verificou-se que a temperatura próxima a 26,5 °C proporcionou o maior desenvolvimento do micélio de *S. maydis* nos dois fotoperíodos estudados, sendo que a faixa ideal de temperatura situou-se entre 25 e 28 °C (Figuras 1 e 2). Analisando os dados observados, verificou-se que o micélio do fungo cobriu completamente a placa de Petri de 80 mm de diâmetro após 84 h de incubação sob fotoperíodo de 12 h, enquanto que sob luz contínua foram necessários 96 h de incubação (Figuras 1 e 2). No caso de *S. macrospora*, o maior crescimento do micélio foi estimado nas temperaturas de 27,3 e 24,5 °C, respectivamente ao regime de luz contínua e fotoperíodo de 12 h (Figuras 3 e 4). Independente do período de luz, a faixa ideal de temperatura para o crescimento miceliano de *S. macrospora* ocorreu entre 23 e 28 °C. Analisando os dados observados, verificou-se que o micélio do fungo *S. macrospora* atingiu os bordos da placa de Petri após um período de 96 h de incubação com fotoperíodo de 12 h

(Figura 4). Marasas & Van Der Westhuizen relataram que *S. macrospora*, cultivado em meio de BDA a 25 °C no escuro, atingiu o bordo da placa de Petri de 9 cm em 5 dias, demonstrando velocidade de crescimento semelhante aos obtidos nesse ensaio, porém com diferente regime luminoso.

Os resultados obtidos demonstraram que o maior crescimento miceliano dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*, em meio de cultura de BSA, ocorreu numa faixa de temperatura de 23 a 28 °C, com fotoperíodo de 12 h.

Comparando-se o crescimento miceliano das espécies de *Stenocarpella*, verificou-se que *S. macrospora* adaptou-se mais facilmente às temperaturas mais baixas, crescendo três vezes mais rapidamente do que *S. maydis* quando submetida à temperatura de 15 °C e fotoperíodo de 12 h, durante 84 h de incubação (Figuras 2 e 4). Além disso, o fungo *S. macrospora* iniciou o crescimento do micélio antes do que *S. maydis* nas temperaturas de 15 e 20 °C. Segundo Sutton & Waterston (1966b) e Marasas & Van Der Westhuizen (1979) a espécie *S. macrospora* ocorre mais comumente em regiões com clima tropical, em áreas quentes e úmidas. No entanto, demonstrou-se nesse trabalho que a espécie *S. macrospora* também pode adaptar-se a regiões de clima mais frio. Convém lembrar que em regiões mais frias como na Região Sul do Brasil, em lavouras de plantio direto e monocultura, a ocorrência e a intensidade da mancha foliar de diplodia tem aumentado (Casa *et al.*, 2000; Reis & Casa, 2000). Apesar de *S. macrospora* adaptar-se melhor as temperaturas mais baixas, verificou-se que a velocidade de crescimento micelial de *S. maydis* é maior quando os fungos são comparados crescendo nas faixas de temperatura ideal (Figuras 2 e 4). Analisando-se o tempo de crescimento do micélio pode-se inferir também que tanto *S. maydis* como *S. macrospora* sejam considerados patógenos de crescimento rápido.

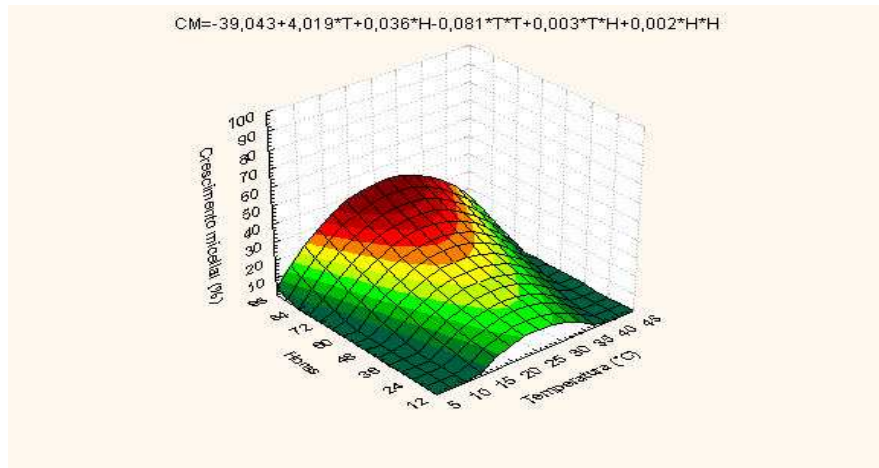


Figura 1. Representação tridimensional do crescimento do micélio (CM) de *Stenocarpella maydis* em função da temperatura (T) e do número de horas (H) descritas pela função $CM = -39,043 + 4,019T + 0,036H - 0,081TT + 0,003TH + 0,002HH$, sob regime de luz contínua.

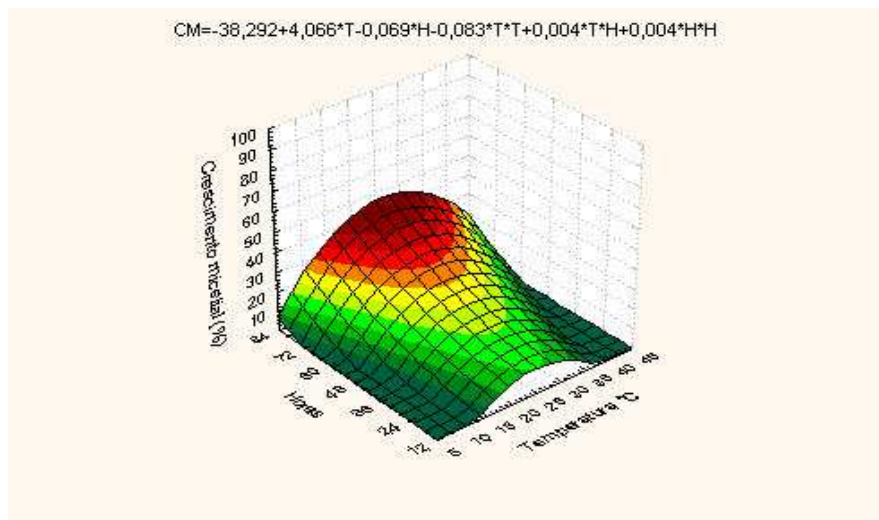


Figura 2. Representação tridimensional do crescimento miceliano de *Stenocarpella maydis* em função da temperatura (T) e do número de horas (H) descritas pela função $CM = -38,292 + 4,066T - 0,069H - 0,083TT + 0,004TH + 0,004HH$, sob fotoperíodo de 12 h.

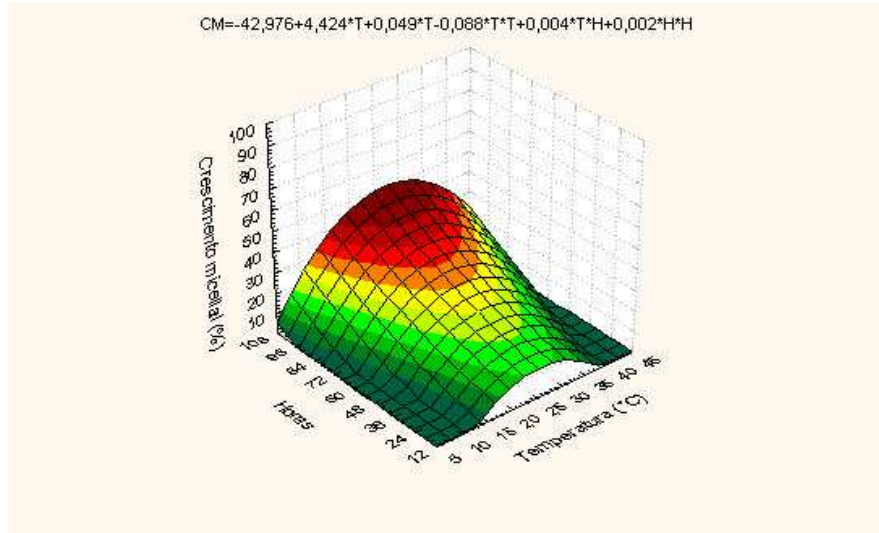


Figura 3. Representação tridimensional do crescimento do micélio (CM) de *Stenocarpella macrospora* em função da temperatura (T) e do número de horas (H) descritas pela função $CM = -42,976 + 4,424T + 0,049H - 0,089TT + 0,004TH + 0,002HH$, sob regime de luz contínua.

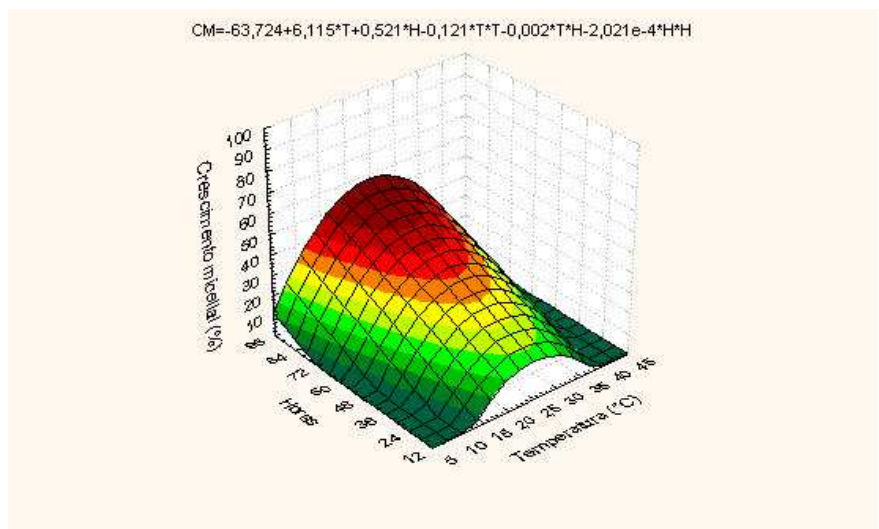


Figura 4. Representação tridimensional do crescimento do micélio (CM) de *Stenocarpella macrospora* em função da temperatura (T) e do número de

horas (H) descritas pela função $CM = -63,724 + 6,115T + 0,521H - 0,121TT - 0,002TH - 2,021e^{-4HH}$, sob fotoperíodo de 12 h.

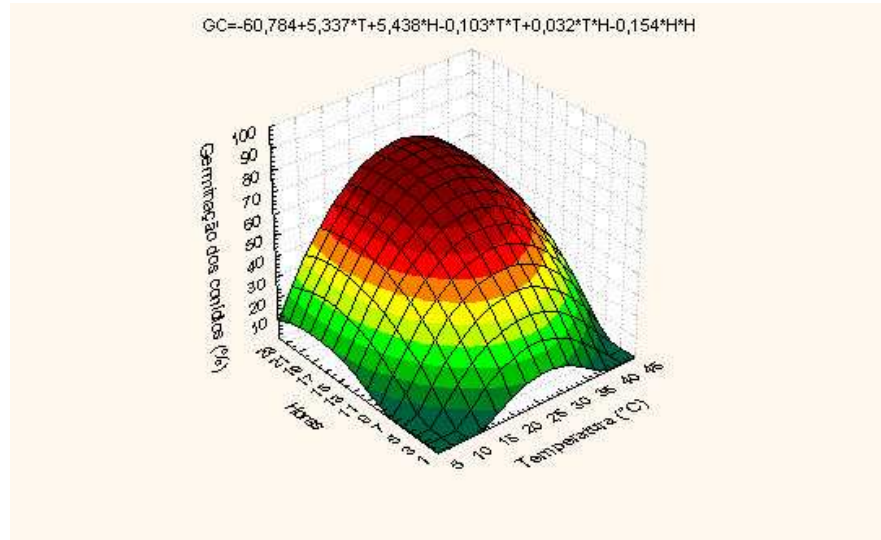
Germinação dos conídios

Os conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* não germinaram após 24 h de incubação nas temperaturas de 5 e 45 °C, independente do fotoperíodo (Figuras 5, 6, 7 e 8). Mesmo não sendo avaliado por um período maior de tempo, verificou-se que a sensibilidade do micélio dos fungos é maior do que a dos esporos, uma vez que com temperaturas de 10 e 40 °C não se observou crescimento miceliano (Figuras 1, 2, 3 e 4). Portanto, os esporos de *S. maydis* e *S. macrospora* permanecem viáveis num período de 24 h numa amplitude de temperatura de 10 até 40 °C.

A faixa de temperatura entre 25 e 35 °C propiciou as maiores porcentagens de germinações dos conídios de *S. maydis* independente do regime luminoso. A temperatura ótima estimada para a germinação dos conídios de *S. maydis* foi de 29,5 °C na presença de luz e de 32,7 °C no escuro (Figuras 5 e 6). Os conídios de *S. macrospora* germinaram em maior porcentagem numa faixa de temperatura de 25 a 30 °C. Com base nos valores estimados verificou-se que a temperatura ótima para a germinação dos conídios de *S. macrospora* foi de 26,4 e 28,6 °C respectivamente sob luz e escuro (Figuras 7 e 8). Comparando-se as duas espécies verifica-se que *S. macrospora* adapta-se a temperaturas mais baixa.

Considerando o regime luminoso verificou-se que a germinação dos conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* iniciou-se mais rapidamente quando os esporos foram incubados na presença de luz independente da temperatura (Figuras 5, 6, 7 e 8). Na faixa de temperatura ideal, após 24 h de incubação, verificou-se que a germinação dos esporos de *S. macrospora* sob luz contínua foi aproximadamente 30 % superior quando comparado com os conídios mantidos no escuro (Figuras 7 e 8), enquanto que para *S. maydis* as diferenças não foram significativas. Nenhum conídio de *S. maydis* e *S. macrospora* germinou com uma hora de incubação; somente após duas horas na

temperatura 30 °C e sob luz foram detectados os primeiros conídios



germinados.

Figura 5. Representação tridimensional da germinação dos conídios (GC) de *Stenocarpella maydis* em função da temperatura (T) e do número de horas (H) descritas pela função $GC = -60,784 + 5,337T + 5,438H - 0,103TT + 0,032TH - 0,154HH$, sob regime de luz contínua.

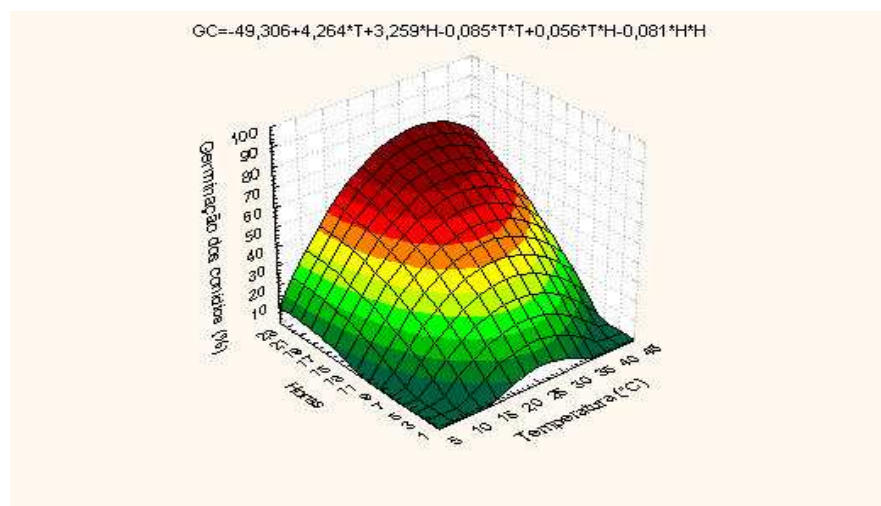


Figura 6. Representação tridimensional da germinação dos conídios (GC) de *Stenocarpella maydis* em função da temperatura (T) e do número de horas

(H) descritas pela função $GC = -49,306 + 4,264T + 3,259H - 0,085TT + 0,056TH - 0,081HH$, sob regime de escuro contínuo.

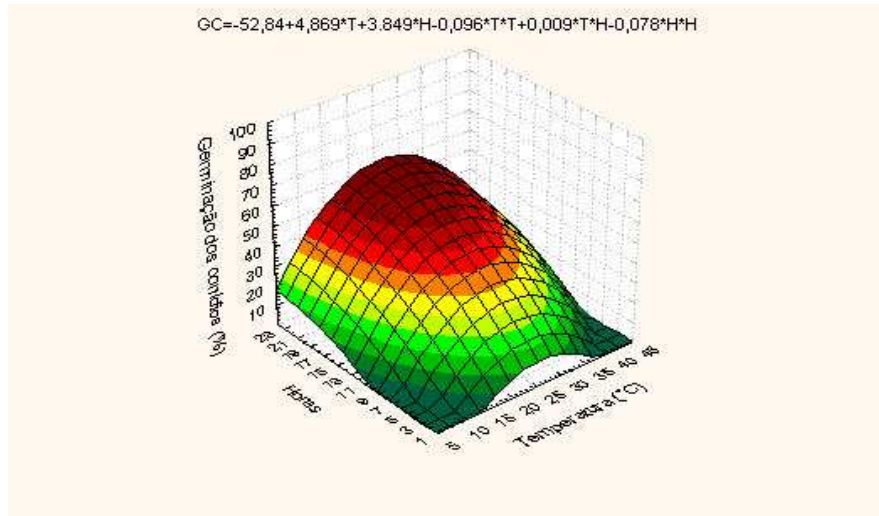


Figura 7. Representação tridimensional da germinação dos conídios (GC) de *Stenocarpella macrospora* em função da temperatura (T) e do número de horas (H) descritas pela função $GC = -52,84 + 4,869T + 3,849H - 0,096TT + 0,009TH - 0,078HH$, sob regime de luz contínua.

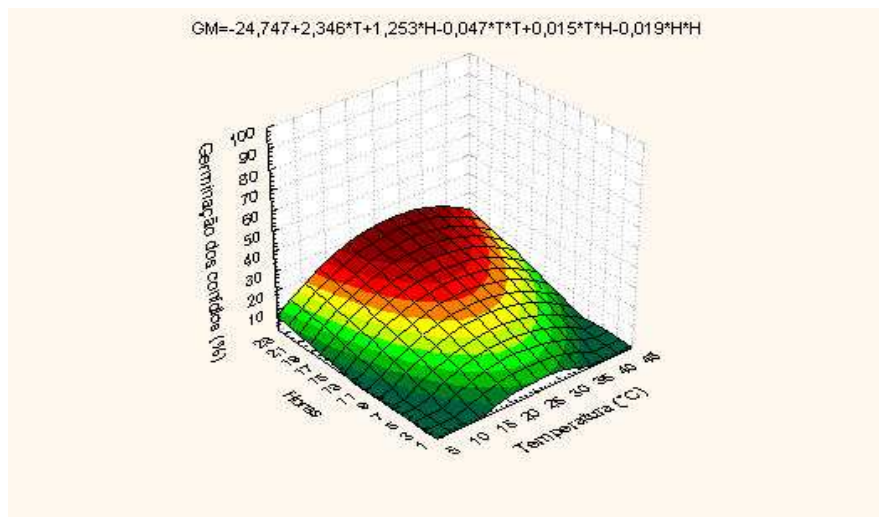


Figura 8. Representação tridimensional da germinação dos conídios (GC) de *Stenocarpella macrospora* em função da temperatura (T) e do número de

horas (H) descritas pela função $GC = -24,747 + 2,346T + 1,253H - 0,047TT + 0,015TH - 0,019HH$, sob regime de escuro contínuo.

Liberação do cirro

O efeito da temperatura em função do tempo sobre a extrusão do cirro de conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* somente foi determinado para o regime de luz contínua, uma vez que na natureza a captura dos esporos é maior durante o dia como foi relatado no artigo II. Convém lembrar que a extrusão foi determinada em ambiente saturado, ou seja, com colmos umidecidos e mantidos em câmara úmida.

Com base nos dados observados verificou-se que a faixa de temperatura entre 30 e 35 °C proporcionou a extrusão do cirro de *S. maydis* e *S. macrospora* mais rapidamente e em maior quantidade (Figuras 9 e 10). Em geral, à medida que aumentou o tempo de incubação dos colmos maior foi o número de picnídios com cirros detectados. Com 2 h de câmara úmida nas temperaturas de 30 e 35 °C detectou-se, em média, 66,7 e 83,3 % de cirros liberados respectivamente para *S. maydis* e *S. macrospora* (Figuras 9 e 10).

Nas temperaturas extremas de 10 e 40 °C detectou-se menor quantidade de cirros, sendo que a 40 °C a extrusão do cirro foi reduzida para ambas espécies (Figuras 9 e 10). Em geral na natureza dificilmente ocorrem temperaturas acima de 40 °C. Considerando que no sistema plantio direto a temperatura do solo é mais baixa que no plantio convencional, raramente a palha de milho mantida sobre o solo atingirá temperaturas acima de 40 °C. Assim sendo, em lavouras de plantio direto a formação do picnídio e liberação do cirro dificilmente será comprometida.

Com base nos valores estimados determinou-se que a temperatura ótima para a extrusão do cirro de *S. macrospora* e *S. maydis* foi de 30,9 e 33,8 °C, respectivamente.

Comparando-se as duas espécies verifica-se que a extrusão do cirro de *S. macrospora* ocorre com temperatura mais baixa; além disto, nas temperaturas de 10 a 20 °C a proporção de liberação do cirro é maior (Figuras 9 e 10).

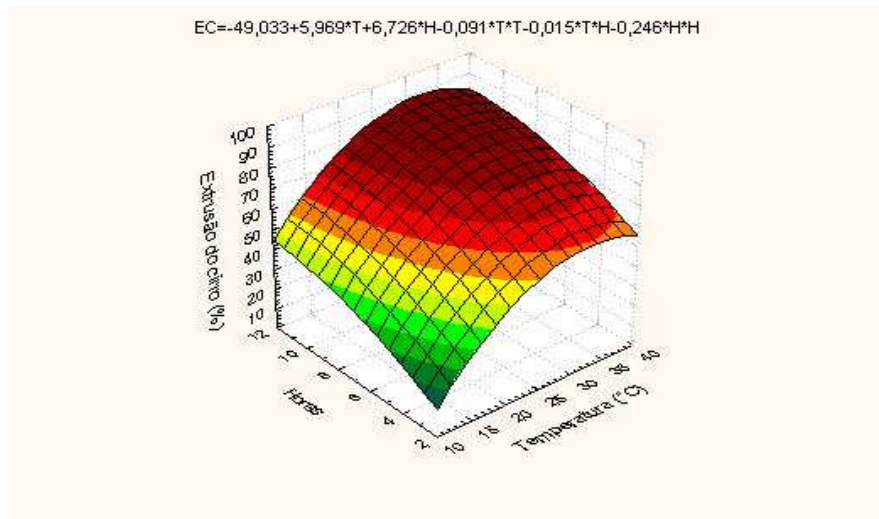


Figura 9. Representação tridimensional da extrusão do cirro (EC) de conídio de *Stenocarpella maydis* em função da temperatura (T) e do número de horas (H) descritas pela função $GC = -49,033 + 5,969T + 6,726H - 0,091TT + 0,015TH - 0,246HH$, sob regime de luz contínua.

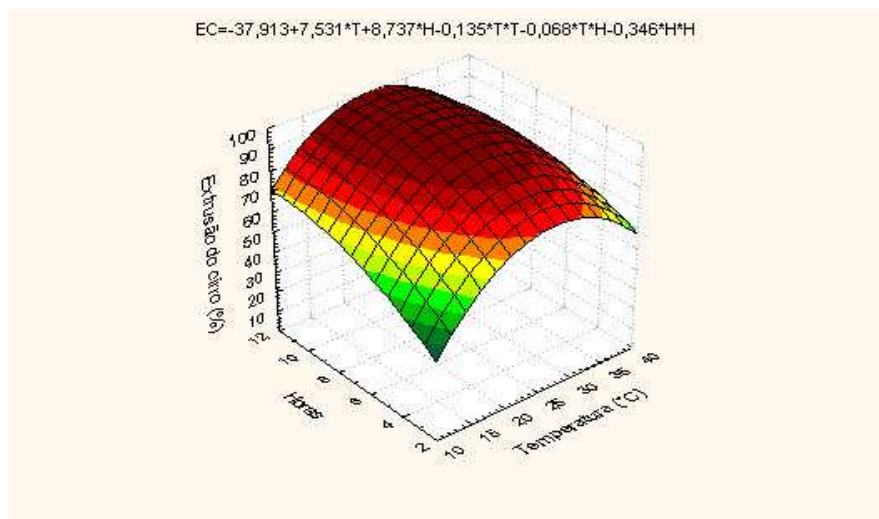


Figura 10. Representação tridimensional da extrusão do cirro (EC) de conídio de *Stenocarpella macrospora* em função da temperatura (T) e do número de

horas (H) descritas pela função $GC=-37,913+7,531T+8,737H-0,135TT+0,068TH-0,346HH$, sob regime de escuro contínuo.

Em teste preliminar verificou-se que a liberação dos cirros de *S. maydis* e *S. macrospora*, quando mantidos em câmara úmida a 25 °C de temperatura e fotoperíodo de 12 h, liberaram os cirros diariamente durante dez dias. Tal fato comprova que o carregamento ou amadurecimento do picnídio é um processo cíclico, favorecendo a produção de esporos em grande quantidade. Assim, assume-se que o potencial de inóculo de *Stenocarpella* sobre os restos culturais no campo, quando as condições ambientais forem favoráveis, pode ocorrer por um longo período de tempo, pelo menos em quanto existir a presença da palha infectada sobre o solo.

CONCLUSÕES

Com base no crescimento do micélio concluiu-se que *S. maydis* e *S. macrospora* não cresceram à temperatura inferior a 10 °C e superior a 40°C.

Considerando a faixa térmica de maior porcentagem de germinação dos conídios, 25 a 35 °C, assume-se que *S. macrospora* germina em temperaturas mais baixas do que *S. maydis*.

Os conídios de *S. maydis* e *S. macrospora* são mais resistentes às amplitudes térmicas, quando comparados com o micélio, podendo germinar a 10°C e a 40°C.

Em geral, nas temperaturas mais baixas, o crescimento do micélio e a germinação dos conídios de *S. macrospora* ocorre antes que *S. maydis*.

Considerando o regime luminoso, concluiu-se que o crescimento do micélio e a germinação dos esporos ocorreram antes e mais rapidamente com fotoperíodo de 12 h para *S. maydis* e sob presença de luz contínua para *S. macrospora*.

A liberação do cirro de *S. maydis* e *S. macrospora* ocorreu em maior porcentagem com temperaturas acima de 30 °C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASA, R.T., REIS, E.M., SEVERO, R., DENTI, E., TRENTO, S. & BLUM, M.M.C. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: Sandini, I.E. & Fancelli, A.L. (Eds). Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: FAPA, 2000. p. 131-146.
- CHAMBERS, K.R. Effect of time of inoculation on Diplodia stalk and ear rot of maize in South Africa. *Plant Disease* 72: 529-531. 1988.
- BENSCH, M.J. *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton colonization of maize ears. *Journal of Phytopathology* 143: 597-599. 1995.
- BENSCH, M.J. & VAN STADEN, J. Ultrastructural histopathology of infection and colonization of maize by *Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis*). *Journal of Phytopathology* 136: 312-318. 1992.
- FLETT, B.C. & WEHNER, F.C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. *Journal of Phytopathology* 133: 327-333. 1991.
- FLETT, B.C., WEHNER, F.C. & SMITH, M.F. Relationship between maize stubble placement in soil and survival of *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*). *Journal of Phytopathology* 134:33-38. 1992.
- HOOKE, A.L. Factors affecting the spread of *Diplodia zeae* in inoculated corn stalks. *Phytopathology* 47: 196-199. 1957.

LATTERELL, F.M. & ROSSI, A.E. *Stenocarpella macrospora* (=Diplodia *macrospora*) and *S. maydis* (=D. *maydis*) compared as pathogens of corn. Plant Disease 67: 725-729. 1983.

MARASAS, W.F.O. & VAN DER WESTHUIZEN, G.C.A. *Diplodia macrospora*: the cause of leaf blight and cob rot of maize (*Zea mays*) in South Africa. Phytophylactica 11: 61-64. 1979.

MORANT, M.A., WARREN, H.L. & VON QUALEN, S.K. A synthetic medium for mass production of picnidiospores of *Stenocarpella* species. Plant Disease 77: 424-426. 1993.

RAM, A., RAM, C. & ROCHA, H.M. A new disease of maize in Bahia, Brazil, with special reference to its causal organism. Turrialba 23: 227-230. 1973.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Controle de doenças fúngicas na cultura do milho em plantio direto no sul do Brasil. In: Borges, G. & Borges, L.D. (Eds). Seminário sobre tecnologia de produção e comercialização do milho, 2000, Passo Fundo, RS. Resumo de palestras. Editora Aldeia Norte, Passo Fundo, RS. 136p.

SHURTLEFF, M.C. Compendium of corn diseases. American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA 1992. 105p.

SMITH, D.R. & WHITE, D.G. Disease of corn. In: Sprague, G.F. & Dudley Y.W. Corn and Corn Improvement. 3.ed. 1988. p.687-766. (Agronomy Monograph, 18)

SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Diplodia maydis*. London: C.M.I., 1966a. (Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, 84).

SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Diplodia macrospora*. London: C.M.I., 1966b. (Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, 83).

ULLSTRUP, A.J. Observations on two ephiphytotics of *Diplodia* ear rot of corn in Indiana. *Plant Disease* 48:414-415. 1964.

WHITE, D.G. Compendium of corn diseases. Third edition. American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 1999. 78p.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M. Organic matter decomposition. In: Alexander, M. (Ed). Introduction to soil microbiology. New York: John Wiley. 1961. pp. 139-162.
- ALEXOPOULOS, C.J. & MIMS, C.W. Introductory mycology. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons. 1979. 646p.
- ANDERSON, B. & WHITE, D.G. Fungi associated with cornstalk in Illinois in 1982 and 1983. Plant Disease 71: 135-137. 1987.
- ANDERSON, B. & WHITE, D.G. Evaluation of methods for identification of corn genotypes with stalk rot and lodging resistance. Plant Disease 78: 590-593. 1994.
- AYLOR, D.E. The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. Annual Review of Phytopathology 28: 73-92. 1990.

- BALMER, E. Doenças do milho. In: Galli, F. (Ed.). Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.371-379.
- BALMER, E. & PEREIRA, O.A.P. Doenças do milho. In: Paterniani, E. & Viegas, G.P. (Eds). Melhoramento e produção do milho. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.2, p.595-634.
- BE MILLER, J.N. & PAPPELIS, A.J. 2,4-Dihydroxy-7methoxy-1,4-benzoxazin-3-one glicoside in corn. I. Relation of water-soluble, 1-butanol-soluble glycoside fraction content of pith cores and stalk rot resistance. *Phytopathology* 55:1237-1240. 1965.
- BENSCH, M.J. *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton colonization of maize ears. *Journal of Phytopathology* 143:597-599. 1995.
- BENSCH, M.J. & VAN STADEN, J. Ultrastructural histopathology of infection and colonization of maize by *Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis*). *Journal of Phytopathology* 136:312-318. 1992.
- BENSCH, M.J., VAN STADEN, J. & RIJKENBERG, F.H.J. Time and site inoculation of maize for optimum infection of ears by *Stenocarpella maydis*. *Journal of Phytopathology* 136:265-269. 1992.
- BLUM, M.M.C. *Pyrenophora avenae*: ocorrência, inóculo, patogenicidade e sobrevivência (Dissertação de Mestrado). Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1997.
- BLUM, M.M.C., FONTOURA, S.M.V., NOVATIZKI, M.R. & CLAZER, E.R. Efeito de doses de nitrogênio e população de plantas sobre a incidência de fungos na semente de milho colhida. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 5, Ponta Grossa, PR, 1998.

Sanidade de Sementes no Século XXI. Programa & Resumos. Ponta Grossa, PR. p. 27.

BRANDALIZZE, V. Impacto do milho no agrobusiness. In: Sandini, I.E. & Fancelli, A.L. (eds). Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. p.179-186.

BRASIL. Levantamento e reconhecimento dos solos do Rio Grande do Sul. Recife: Ministério da Agricultura. 1973. 431p. (Boletim Técnico, 30).

BRENNAN, R.M., FITT, B.D.L., TAYLOR, G.S. & COLHOUN, J. Dispersal of *Septoria nodorum* pycnidiospores by simulated rain in still air. Phytopathologische Zeitschrift 112:281-290. 1985.

BÜLL, L.T. & CANTARELLA, H. Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. 301p.

CASA, R.T. *Diplodia maydis* e *Diplodia macrospora* associados à semente de milho (Dissertação de Mestrado). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1997.

CASA, R.T., REIS, E.M., MEDEIROS, C.A. & MOURA, F.B. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas, na proteção de fungos do solo, no Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira 20:633- 638. 1995.

CASA, R.T., REIS, E.M., SEVERO, R., DENTI, E., TRENTO, S. & BLUM, M.M.C. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: Sandini, I.E. & Fancelli, A.L. (eds). Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. p.131-146.

- CASA, R.T., REIS, E.M. & ZAMBOLIM, L. Fungos associados à semente de milho produzida nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 23:370-373. 1998a.
- CASA, R.T., ZAMBOLIM, L. & REIS, E.M. Transmissão e controle de diplódia em sementes de milho. *Fitopatologia Brasileira* 23:436-441. 1998b.
- CHAMBERS, K.R. Effect of time of inoculation on Diplodia stalk and ear rot of maize in South Africa. *Plant Disease* 72:529-531. 1988.
- CLAYTON, E.E. Diplodia ear rot disease of corn. *Journal Agricultural Research* 34: 357-371. 1927.
- COMMITTEE ON STANDARDIZATION OF COMMON NAMES FOR PLANT DISEASES. Common names for plant disease. *Plant Disease* 69:649-676. 1985.
- COSTA NETO, J.P. Lista de fungos sobre gramineae (capins e cereais) no Rio Grande do Sul. *Revista da Faculdade de Agronomia* 1:43-78. 1976 (UFRGS).
- COSTAMILAN, L.M., LHAMBY, J.C.B. & BONATO, E.R. Sobrevivência de fungos necrotróficos em restos de cultura da soja, em sistema de plantio direto. *Fitopatologia Brasileira* 24:175-177. 1999.
- CRAIG, J. & HOOKER, A.L. Diplodia root and stalk rot of dent corn. *Phytopathology* 51:382-385. 1961.
- CURL, E.A. Control of plant disease by crop rotation. *Botanical Review* 298:413-429. 1963.

- CUTLER, H.G., CRUMLEY, F.G., COX, R.H., COLE, R.J., DORNER, J.W., LATTERELL, F.M. & ROSSI, A.E. Diplodiol: a new toxin from *Diplodia macrospora*. Journal Agricultural Food and Chemistry 28:135-138. 1980.
- DAI, K., NAGAI, M., SASAKI, H., NAKAMURA, H., TACHECHI, K. & WARABI, M. Detection of *Diplodia maydis* (Berkeley) Saccardo from imported corn seed. Research Bulletin of the Plant Protection Service 23:1-6. 1987.
- DE FINA, A. & RAVELLO, A.C. Climatología y fenología agrícolas. Eudeba, Editorial Universitaria de Buenos Aires. 1972. 281p.
- DEL RÍO, L. & MELARA, W. Dispersion de *Stenonocarpella maydis* (Berk.) Sutton en un cultivo de maíz. Ceiba 32:133-140. 1991.
- DENTI, E.A. Incidência de fungos, efeito das práticas culturais, reação de genótipos e quantificação de danos associados com as podridões da base do colmo do milho (Dissertação de Mestrado). Passo Fundo. Universidade de Passo Fundo. 2000.
- DENTI, E.A., TRENTO, S. & REIS, E.M. Incidência, frequência e danos por fungos envolvidos com as podridões da base do colmo do milho em 1997/98, nas regiões do Planalto Médio Gaúcho (RS) e Guarapuava (PR). Fitopatologia Brasileira 24:279. 1999.
- DERPSCH, R. Adubação verde e rotação de culturas. In: Encontro Nacional de Plantio Direto, 3, 1985, Ponta Grossa, Anais... Ponta Grossa: Fundação ABC, 1985. p.85-104.

- DODD, J.L. The role of plant stresses in development of corn stalk rots. *Plant Disease* 64:533-537. 1980.
- EARLE, F.S. New species of fungi imperfect from Alabama. *Bul. Tor. Bot. Club* 24:28-32. 1897.
- EDDINS, A.H. Dry rot of corn caused by *Diplodia macrospora* Earle. *Phytopathology* 20:439-448. 1930.
- FAULKNER, M.J. & COLHOUN, J. Aerial dispersal of picnidiospores of *Leptosphaeria nodorum*. *Phytopathologische Zeitschrift* 86:357-360. 1976.
- FERNANDES, F.T. & OLIVEIRA, E. de. Principais doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS. 1997. 80p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 26).
- FITT, B.D.L. & BAINBRIDGE, H.A. Dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from infected wheat straw. *Phytopathologische Zeitschrift* 106:177-182. 1983.
- FITT, B.D.L. & McCARTENEY, H.A. Spore dispersal in splash droplets. In: Ayres, P.G. & Boddy, L. (Eds). *Water, fungi and plants*. Cambridge University Press, Cambridge. 1986. p.87-104.
- FITT, B.D.L., McCARTENEY, H.A. & WALKATE, P.J. The role of rain in dispersal pathogen inoculum. *Annual Review of Phytopathology* 27:241-270. 1989.
- FLETT, B.C. & WEHNER, F.C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. *Journal of Phytopathology* 133:327-333. 1991.

- FLETT, B.C., WEHNER, F.C. & SMITH, M.F. Relationship between maize stubble placement in soil and survival of *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*). *Journal of Phytopathology* 134:33-38. 1992.
- FLETT, B.C. & McLAREN, N.W. Optimum disease potential for evaluating resistance to *Stenocarpella maydis* ear rot in corn hybrids. *Plant Disease* 78:587-589. 1994.
- FLETT, B.C., McLAREN, N.W. & WEHNER, F.C. Incidence of ear rot pathogens under alternating corn tillage practices. *Plant Disease* 82:781-784. 1998.
- FOLEY, D.C. The response of corn to inoculation with *Diplodia zeae* and *Giberella zeae*. *Phytopathology* 50:146-150. 1960.
- FOLEY, D.C. & WERNHAM, C.C. The effect of fertilizers on stalk rot of corn in Pennsylvania. *Phytopathology* 47:11-12. 1957.
- FOURNET, J. Propriétés et rôle du cirrhe du *Septoria nodorum*. *Annual Phytopathology* 1:87-94. 1969.
- FREDERICSON, D.E., MANTLE, P.G. & DE MILLIANO, W.A.J. Secondary conidiation of *Sphacelia sorghi* on sorghum, a novel factor in the epidemiology of ergot disease. *Mycological Research* 93:497-502. 1989.
- GRIFFITHS, D.C. & HANN, C.A.O. Dispersal of *Septoria nodorum* spores and spread of glume blotch of wheat in the field. *Transactions of the British Mycological Society* 67:413-418. 1976.

- HEWETT, P.D. The field behaviour of seedborne *Ascochyta fabae* and disease control in field beans. *Annals of applied Biology* 74:287-295. 1973.
- HOOKER, A.L. Factors affecting the spread of *Diplodia zeae* in inoculated corn stalks. *Phytopathology* 47:196-199. 1957.
- HOOKER, A.L. & BRITTON, P. The effects of stalk rot on corn yields in Illinois. *Plant Disease* 46:9-13. 1962.
- HOOKER, A.L. & WHITE, D.G. Prevalence of corn stalk rot in Illinois. *Plant disease* 60:364-365. 1976.
- HOPPE, P.E. Intraspecific and interspecific aversion in *Diplodia*. *Journal Agricultural Research* 53:671-680. 1936.
- INGOLD, C.T. *Fungal spores: Their liberation and dispersal*. Clarendon Press. Oxford University Press, Ely House. London. 1971. 302p.
- ITO, M.F., PARADELLA FILHO, O., SUGIMORI, M.H. & SOAVE, J. Podridão em espiga de milho (*Zea mays* L.) causada por *Diplodia frumenti* Ell. & Ev. *Summa Phytopathologica* 5:181-185. 1979.
- JOHANN, H. *Diplodia macrospora* em milho no Brasil. *Plant Disease* 19:9-10. 1935.
- JUGENHEIMER, R.W. *Corn improvement seed production and uses*. New York:John Wiley & Sons, 1976. 670p.
- KLAPPROTH, J.C. & HAWK, J.A. Evaluation of four inoculation techniques for infecting corn ear with *Stenocarpheella maydis*. *Plant Disease* 75:1057-1060. 1991.

- KOEHLER, B. Husk coverage and ear declination in relation to corn ear rots. *Phytopathology* 41:22. 1951.
- KOEHLER, B. Cornstalk in Illinois. Illinois:[s.n.], 1960. (Ill. Agr. Exp. Sta. Bull., 658).
- KOEHLER, B. & BOEWE, G.H. Causes of corn stalk in Illinois. *Plant Disease* 41: 501-504. 1957.
- LASCA, C.C. Tratamento de sementes. In: Simpósio Brasileiro de patologia de Sementes, 2, 1986, Campinas, SP. Produção de sementes sadias; inspeção de campo e tratamento de sementes. Campinas, SP:Fundação Cargill, 1986. p. 93-99.
- LATTERELL, F.M. & ROSSI, A.E. *Stenocarpheila macrospora* (=Diplodia *macrospora*) and *S. maydis* (=D. *maydis*) compared as pathogens of corn. *Plant Disease* 67:725-729. 1983.
- LLANO, A. & SCHIEBER, E. *Diplodia macrospora* on corn in Nicaragua. *Plant Disease* 64:797. 1980.
- MACDONALD, M.V. & CHAPMAN, R. The incidence of *Fusarium moniliforme* on maize from Central America, Africa and Asia during 1992-1995. *Plant Pathology* 46:112-125. 1997.
- MADDEN, L.V. Effects of rain splash dispersal of fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19:225-230. 1997.

- MARASAS, W.F.O. & VAN DER WESTHUIZEN, G.C.A. *Diplodia macrospora*: the cause of leaf blight and cob rot of maize (*Zea mays*) in South Africa. *Phytophyllactica* 11:61-64. 1979.
- MÁRIO, J.L. Comparação de métodos de inoculação de *Diplodia maydis* em espigas de milho e reação de híbridos em condições de infecção natural de *D. macrospora* (Dissertação de Mestrado). Passo Fundo. Universidade de Passo Fundo. 1998.
- MÁRIO, J.L., PRESTES, A.M. & REIS, E.M. Avaliação da resistência à mancha foliar de *Diplodia macrospora* em genótipos de milho. *Fitopatologia Brasileira* 22:280. 1997.
- MÁRIO, J.L. & REIS, E.M. Método simples para diferenciar *Diplodia macrospora* de *D. maydis* em testes de patologia de sementes de milho. *Fitopatologia Brasileira* 23:300. 1998.
- MÁRIO, J.L., REIS, E.M. & SEVERO, R. Quantificação do inóculo de *Diplodia macrospora* e de *D. maydis* em restos culturais, no ar e sua relação com a infecção de grãos de milho. *Fitopatologia Brasileira* 23:301. 1998.
- McGEE, D.C. Maize diseases: a reference source for seed technologists. St. Paul: The American Phytopathological Society. 1988. 150p.
- McNEW, G.L. Crown infection of corn by *Diplodia zae*. Iowa:[s.n.], 1937 (Iowa Agric.Exp. Stn. Res. Bull., 216).
- MENEZES, M. & OLIVEIRA, S.M.A. Fungos fitopatogênicos. Recife: Ed. da UFRPE, 1993. 277p.

- MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associado às sementes. In: Semana de Atualização em Patologia de Sementes, 2, 1991, Piracicaba, SP. Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico. Piracicaba, SP: ESALQ/FEALQ, 1991. p.115-136.
- MICHAELSON, M.E. & CHRISTENSEN, J.J. Reduction in yield of corn due to stalk rot. *Phytopathology* 43:479. 1953.
- MOLIN, R. & VALENTINI, M.L. Simpósio sobre micotoxinas em grãos. Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999. 208p.
- MORA, L.E. & MORENO, R.A. Cropping pattern and soil management influence on plant diseases: I. *Diplodia macrospora* leaf spot of maize. *Turrialba* 34:35-40. 1984.
- MORANT, M.A., WARREN, H.L. & QUALEN, S.K.VAN. A synthetic medium for mass production of picnidiospores of *Stenocarpella* species. *Plant Disease* 77: 424-426. 1993.
- MORELLO, C.L., SANTOS, G.R., MIRANDA, G.V. & ARAÚJO, E. Fungos associados à podridão de espiga de milho, ciclo normal, no Estado do tocanins. *Fitopatologia Brasileira* 19:272. 1994.
- MUNKVOLD, G.P. & DESJARDINS, A.E. Fumonisins in maize: Can we reduce their occurrence? *Plant Disease* 81:556-565. 1997.
- NATTI, T.A. & WHITE, D.G. Yield losses due to anthracnose and *Diplodia* stalk rot of corn. *Phytopathology* 71:1117. 1981.
- NAZARENO, N.R.X. Avaliação de perdas por podridão de colmo em milho (*Zea mays*) no Estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira* 14:82-84. 1989.

- NEMEC, S. The deuteromycotina: *Diplodia*. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D. & Rush, C.M. (Eds). Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. St. Paul: American Phytopathological Society, 1992. p.111-114.
- NUTTER, F.W., TENG, P.S. & ROYER, M.H. Terms and concepts for yield, crop loss, and disease thresholds. *Plant Disease* 77:211-215. 1993.
- OLIVEIRA, DE M.Z.A. & MELLO, DE S.C.M. Qualidade sanitária de sementes de milho (*Zea mays*) das regiões de Irecê e do Vale do Paraguaçu, Bahia. *Fitopatologia Brasileira* 11:283. 1986.
- PAPPELIS, A.J. & SMITH, F.G. Relationship of water content and living cells to spread of *Diplodia zeae* in corn stalks. *Phytopathology* 53:1100-1105. 1963.
- PAPPELIS, A.J., MAYAMA, S., MAYAMA, M., BEMILLER, J.N., MURPHY, J.A., MUMFORD, P., PAPPELIS, G.A. & KANG, M.S. Parenchyma cell death and *Diplodia maydis* susceptibility in stalks and ears of corn. *Plant Disease* 57: 308-310. 1973.
- PEREIRA, O.A.P. Tratamento de sementes de milho. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 2, 1986, Campinas, SP. Produção de sementes sadias; inspeção de campo e tratamento de sementes. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1986. p.145-148.
- PEREIRA, O.A.P. Doenças do milho (*Zea mays* L.). In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds). Manual de Fitopatologia. Volume 2: Doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995-1997. p.538-555.

PEREIRA, O.A.P. & PEREIRA, W.S.P. Estudo de *Diplodia zeae* (Shw) Lev. e *Fusarium moniliforme* Sheldon em colmo de milho. Summa Phytopathologica 2: 157-165. 1976.

PEREIRA, L.R. A cultura do milho no Rio Grande do Sul. In: Sandini, I.E. & Fancelli, A.L. (eds). Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. p.131-146.

PINTO, N.F.J.A. Tratamento fungicida de semente de milho. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 4, 1996, Gramado, RS. Tratamento químico de sementes. Gramado, RS. Fundação Cargill, 1996. p.52-57.

PINTO, N.F.J.A. Patologia de sementes de milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1998. 44p. (Circular Técnica, Embrapa-CNPMS, 29).

RAM, A., RAM, C. & ROCHA, H.M. A new disease of maize in Bahia, Brazil, with special reference to its causal organism. Turrialba 23:227-230. 1973.

RECOMENDAÇÕES... Recomendações técnicas para a cultura do milho no estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. FEPAGRO, 1999. 129p. (Boletim Técnico, 6).

REIS, A.C., REIS, E.M., CASA, R.T. & FORCELINI, C.A. Erradicação de fungos patogênicos associados à semente de milho e proteção de fungos do solo pelo tratamento com fungicida. Fitopatologia Brasileira 20:585-591. 1995.

REIS, E.M. Control of disease small grains by rotation and management of crop residues, in Southern Brazil. In: International Workshop on Conservation

Tillage Systems; Conservation Tillage for Subtropical Areas. Proceedings...
Passo Fundo: CIDA/EMBRAPA-CNPT, 1990. pp.140-146.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Manual de identificação e controle de doenças de milho. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 80p.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Ciclos biológicos e epidemiologia: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Diplodia* e *Fusarium*. In: Molin, R. & Valentini, M.L. (eds) Simpósio Sobre Micotoxinas em Grãos. Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999. p.21-39.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Controle de doenças fúngicas na cultura do milho, em plantio direto, no sul do Brasil. In: Borges, G. & Borges, L.D. (eds). Seminário sobre tecnologia de produção e comercialização do milho, 2000. Passo Fundo, RS. Resumo de Palestras. Editora Aldeia Norte, Passo Fundo, RS. 2000. p.62-71.

REIS, E.M. & SANTOS, H.P. dos. População de *Helminthosporium sativum* no ar através de uma armadilha tipo cata-vento. Fitopatologia Brasileira 10:515-519. 1985.

REIS, E.M., SILVA, C.E.L., CASA, R.T. & MEDEIROS, C.A. Decomposição de restos culturais do trigo e sobrevivência de *Bipolaris sorokiniana*. Fitopatologia Brasileira 23:62-64. 1998.

RHEEDER, J.P., MARASAS, W.F.O., WYK, P.S.VAN., TOIT, W. DU., PRETORIUS, A.J. & SCHALKWYK, D.J. VAN. Incidence of *Fusarium* and *Diplodia* species and other fungi in naturally infected grain of South African maize cultivars. Phytophylactica 22:97-102. 1990.

- SACCARDO, P.A. Sylloge fungorum. Michigan:Edwards Brothers, 1944. v.3, pt.7, 860p.
- SANDINI, I.E. & FANCELLI, A.L. Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. 209p.
- SANTOS, H.P. dos, REIS, E.M. & DERPSCH, R. Rotação de de culturas. In: Plantio Direto no Brasil. Embrapa-Fecotriga e Fundação ABC. Passo Fundo. 1983. p.85-103.
- SAUNDERS, A.R. Maize in South Africa. [s.l.]:Central News Agency, 1930. 284p. (South African Agricultural Series, 7).
- SCOTT, D.B. Soil-borne diseases of wheat and maize in South Africa: etiological and epidemiological aspects. Applied Plant Science 7:60-64. 1993.
- SHURTLEFF, M.C. Compendium of corn diseases. 2.ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1980.
- SHURTLEFF, M.C. Compendium of corn diseases. St. Paul: American Phytopathological Society, 1992. 105p.
- SHURTLEFF, M.C., WOLF, G.L., WYSONG, D.S. Disease resistance and tolerance. In: Jugenheimer, R.W. (Ed.). Corn improvement seed production and uses. New York:John Wiley & Sons, 1976. p.259-327.
- SINGH, B.M. & SHARMA, Y.R. Evaluation of maize germplasm to Diplodia stalk rot and assesment of yield loss. Indian Phytopathology 27:202-207. 1974.

- SMITH, D.R. & WHITE, D.G. Disease of corn. In: Sprague, G.F. & Dudley, Y.W. (Eds). Corn and Corn Improvement. 3. ed. Madison:[s.n.], 1988. p.687-766. (Agronomy monograph, 18).
- SUMMEREL, B.A. & BURGESS, L. Decomposition and chemical composition of cereal straw. Soil & Biochemistry 4:551-559. 1989.
- SUTTON, B.C. The coelomycetes. Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696p.
- SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Diplodia maydis*. London:C.M.I., 1966a. Não paginado. (C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, 84).
- SUTTON, B.C. & WATERSTON, J.M. *Diplodia macrospora*. London:C.M.I., 1966b. Não paginado. (C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria, 83).
- TRENTO, S.M. Quantificação de danos causados por podridões de espiga e por grãos ardidos em milho, em diferentes sistemas de manejo de plantas (Dissertação de Mestrado). Passo Fundo. Universidade de Passo Fundo. 2000.
- ULLSTRUP, A.J. A method for producing artificial epidemics of *Diplodia* ear rot. Phytopathology 39:93-101. 1949.
- ULLSTRUP, A.J. Disease of corn. In: Sprague, G.F. (Ed.). Corn and Corn improvement. New York:Academic, 1955. p.465-536.
- ULLSTRUP, A.J. Observations on two ephiphytotics of *Diplodia* ear rot of corn in Indiana. Plant Disease 48:414-415. 1964.

ULLSTRUP, A.J. Methods for inoculating corn ears with *Gibberella zeae* and *Diplodia maydis*. Plant Disease 54:658-662. 1970

VAN RENSBURG, J.B.J. & FERREIRA, M.J. Resistance of elite maize inbred lines to isolates of *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton. South Africa Journal Plant Soil 14:89-92. 1997.

WILLIAMS, K.C., BLANEY, B.J. DODMAN, R.L. & PALMER, C.L. Assesment for animal feed of maize kernels naturally-infected predominantly with *Fusarium moniliforme* and *Diplodia maydis*. I. Fungal isolations and changes in chemical composition. Australian Journal Agricultural of Research 43:773-782. 1992.

WHITE, D.G. Compendium of corn diseases. Third edition. The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 1999. 78p.

WHITE, D.G., HOEFT, R.G. & TOUCHTON, J.T. effect of nitrogen and nitrapyrin on stalk rot, stalk diameter, and yield of corn. Phytopathology 68:811-814. 1978.

WILCOXSON, R.D. Stalk rot in relation to yield in corn. Phytopathology 52:416-418. 1962.

APÊNDICES

APÊNDICE A

APÊNDICE B

Tabela 1B. Incidência e viabilidade dos conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em resíduos culturais de milho, naturalmente infectados, provenientes de lavouras da Região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, no ano de 1998.

Lavoura	Incidência ¹ (%)		Viabilidade ² (%)	
	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>
01	46,7	30	88	83,9
02	10	3,3	94,9	72,1
03	16,7	40	92,3	86,5
04	0	20	0	80,4
05	0	10	0	75,7
06	20	0	79,3	0
07	0	0	0	0
08	10	0	95,6	0
09	50	10	92,9	85,6
10	3,3	0	93,7	0
11	0	10	0	81,6
12	0	6,7	0	95,1
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0
16	0	0	0	0
17	23,3	53,3	98,7	96,5
Frequência ³ (%)	47,1	52,9	-	-
Média ⁴	10,6	10,8	-	-
Média ⁵	22,5	20,4	91,9	84,2

¹30 colmos avaliados por lavoura; ²50 conídios plaqueados em ágar-água 1%, durante 24 h a 25 ± 2°C; ³proporção de lavouras onde os fungos foram detectados; ⁴média de todas as lavouras; ⁵média das lavouras na qual detectaram-se os fungos.

Tabela 2B. Incidência e viabilidade dos conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em resíduos culturais de milho, naturalmente infectadas, provenientes de lavouras da Região do Planalto Médio do Rio grande do Sul, no ano de 1999.

Lavoura	Incidência ¹ (%)		Viabilidade ² (%)	
	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>
01	23,3	0	87,5	0
02	16,6	20	92	88,6
03	0	0	0	0
04	0	3,3	0	86,7
05	6,7	0	96,7	0
06	0	10	0	97,5
07	0	10	0	92,5
08	10	10	96,8	94,6
09	6,7	0	94,8	0
10	0	0	0	0
11	0	0	0	0
12	3,3	0	86,6	0
13	20	0	94,6	0
14	0	0	0	0
15	13,3	10	84,2	96,5
Frequência ³ (%)	53,3	40,0	-	-
Média ⁴	6,7	4,2	-	-
Média ⁵	12,5	10,6	91,6	92,7

¹30 colmos avaliados por lavoura; ²50 conídios plaqueados em ágar-água 1%, durante 24 h a 25 ± 2°C; ³proporção de lavouras onde os fungos foram detectados; ⁴média de todas as lavouras; ⁵média das lavouras na qual detectaram-se os fungos.

Tabela 3B. Incidência e viabilidade dos conídios de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em resíduos culturais de milho, naturalmente infectadas, provenientes de lavouras da Região do Planalto Médio do rio Grande do Sul, no ano de 2000.

Lavoura	Incidência ¹ (%)		Viabilidade ² (%)	
	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>	<i>S. maydis</i>	<i>S. macrospora</i>
01	0	0	0	0
02	3,3	0	94,7	0
03	20	43,3	97,3	92,1
04	0	0	0	0
05	0	3,3	0	76,7
06	0	3,3	0	80
07	6,7	0	55	0
08	3,3	0	48	0
09	46,7	10	80	66,2
10	10	20	100	85,8
11	13,3	13,3	96,7	91,7
12	0	6,7	0	88,3
13	10	26,7	95	87,2
14	20	13,3	73,3	97,5
15	6,7	20	100	87,5
16	10	26,7	92,2	92,5
17	0	20	0	90,6
Frequência ³ (%)	64,7	70,6	-	-
Média ⁴	8,8	12,1	-	-
Média ⁵	13,6	17,2	84,7	86,3

¹30 colmos avaliados por lavoura; ²50 conídios plaqueados em ágar-água 1%, durante 24 h a 25 ± 2°C; ³proporção de lavouras onde os fungos foram detectados; ⁴média de todas as lavouras; ⁵média das lavouras na qual detectaram-se os fungos.

APÊNDICE C

Quadro 1A. Dados de temperatura do ar, umidade relativa do ar e precipitação pluvial durante os dias 20 de janeiro a 21 de março de 1996, fornecidos pela estação metereológica da Embrapa-Trigo (número 83914), Passo Fundo, RS.

Data	Temperatura do ar (°C)			Umidade relativa do ar (%)			Precipitação pluvial (mm)
	10:00	16:00	22:00	10:00	16:00	22:00	
1. 20/01	20,9	26,6	20,2	79,0	66,0	77,0	4,2
2. 21/01	22,2	24,2	19,2	83,0	82,0	94,0	0
3. 22/01	20,1	27,0	21,0	92,0	57,0	81,0	9
4. 23/01	22,6	28,8	25,0	86,0	47,0	55,0	0,3
5. 24/01	23,2	30,2	19,6	77,0	56,0	98,0	0
6. 25/01	24,0	30,0	18,5	81,0	59,0	93,0	52,7
7. 26/01	24,0	30,0	20,6	76,0	55,0	94,0	4
8. 27/01	20,0	21,0	18,6	93,0	91,0	94,0	17,9
9. 28/01	19,4	22,0	20,6	94,0	81,0	91,0	26
10. 29/01	21,0	28,4	19,8	87,0	62,0	93,0	27,2
11. 30/01	21,6	26,8	19,6	86,0	70,0	98,0	12,4
12. 31/01	19,2	23,1	18,4	92,0	81,0	96,0	25,8
13. 01/02	19,7	25,5	18,3	92,0	62,0	84,0	20,6
14. 02/02	20,2	24,7	20,0	77,0	66,0	77,0	0
15. 03/02	19,4	25,6	20,9	76,0	67,0	85,0	0
16. 04/02	22,0	27,7	24,2	83,0	62,0	79,0	0
17. 05/02	21,2	23,8	21,3	88,0	86,0	95,0	32,6
18. 06/02	21,5	27,1	21,8	85,0	62,0	75,0	4,3
19. 07/02	20,8	28,7	23,8	75,0	59,0	81,0	0
20. 08/02	21,5	24,4	18,6	88,0	78,0	94,0	0
21. 09/02	21,4	25,9	20,6	87,0	78,0	90,0	6,4
22. 10/02	22,1	18,4	18,0	92,0	94,0	92,0	11,5
23. 11/02	17,5	19,2	15,7	97,0	75,0	69,0	33,2
24. 12/02	13,7	21,6	15,2	64,0	42,0	69,0	0
25. 13/02	16,9	25,1	19,0	75,0	44,0	74,0	0
26. 14/02	18,1	24,5	20,4	72,0	54,0	72,0	0
27. 15/02	19,6	25,5	19,9	76,0	69,0	89,0	0
28. 16/02	22,1	27,9	22,5	83,0	57,0	80,0	0

Continuação ...

29. 17/02	22,8	27,6	22,1	80,0	60,0	80,0	0
30. 18/02	22,3	26,9	20,0	79,0	64,0	91,0	0
31. 19/02	21,4	27,5	23,6	84,0	59,0	77,0	0
32. 20/02	22,8	28,6	21,8	81,0	60,0	76,0	5,4
33. 21/02	23,4	29,4	23,3	80,0	59,0	78,0	0
34. 22/02	23,0	31,3	25,4	77,0	47,0	65,0	0
35. 23/02	24,0	30,8	23,2	77,0	53,0	74,0	0
36. 24/02	21,2	29,0	20,6	91,0	63,0	92,0	3,5
37. 25/02	21,2	23,7	22,8	89,0	86,0	90,0	1,7
38. 26/02	23,0	27,9	24,0	86,0	64,0	84,0	1
39. 27/02	23,8	29,2	20,9	79,0	64,0	89,0	0
40. 28/02	23,1	28,0	19,8	78,0	72,0	96,0	0,8
41. 29/02	22,0	25,9	20,3	83,0	67,0	86,0	14,2
42. 01/03	19,3	22,5	17,9	76,0	70,0	83,0	0
43. 02/03	19,4	21,1	16,8	73,0	69,0	92,0	0
44. 03/03	17,7	23,8	19,8	82,0	66,0	83,0	17,8
45. 04/03	18,4	23,5	18,7	86,0	70,0	89,0	0
46. 05/03	18,8	25,4	19,6	78,0	60,0	85,0	7
47. 06/03	20,3	28,1	21,8	82,0	54,0	83,0	0
48. 07/03	20,7	27,3	20,8	87,0	61,0	84,0	0
49. 08/03	22,3	24,2	20,0	82,0	71,0	87,0	2
50. 09/03	21,0	27,8	20,2	84,0	49,0	87,0	0
51. 10/03	19,4	27,2	22,2	80,0	48,0	55,0	0
52. 11/03	18,6	26,2	21,2	73,0	45,0	55,0	0
53. 12/03	17,8	26,9	20,8	83,0	53,0	77,0	0
54. 13/03	20,3	27,6	19,6	85,0	56,0	92,0	0
55. 14/03	19,7	27,6	21,0	88,0	61,0	84,0	11,6
56. 15/03	21,3	27,9	21,8	78,0	53,0	83,0	0,3
57. 16/03	20,2	26,0	20,6	80,0	60,0	82,0	0
58. 17/03	18,6	25,0	19,6	83,0	55,0	85,0	0
59. 18/03	18,2	24,9	20,5	82,0	66,0	83,0	2,8
60. 19/03	21,6	21,7	20,8	79,0	79,0	84,0	0
61. 20/03	20,0	25,5	21,4	75,0	56,0	74,0	0,6
62. 21/03	20,4	25,6	20,6	72,0	58,0	79,0	0
Média	20,71	26,05	20,56	82,06	63,55	83,11	Total = 356,8

APÊNDICE D

Quadro 1B. Número de conídios de *Stenocarpella maydis* coletados no ar, diariamente, de 20 de janeiro a 21 de março de 1996, com armadilhas de esporos posicionadas em cinco alturas da fonte de inóculo.

Data	Alturas (cm)															Total/ dia	Prec. pluvial ^x (mm)
	12,5			25			50			100			200				
	A	B	AB	A	B	AB	A	B	AB	A	B	AB	A	B	AB		
1. 20/01	964	0	964	513	0	513	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1.479	4,2
2. 21/01	3	0	3	6	0	6	1	1	2	0	0	0	0	0	0	11	0
3. 22/01	0	3	3	0	1	1	40	1	41	0	2	2	0	2	2	49	9
4. 23/01	451	0	451	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	453	0,3
5. 24/01	0	0	0	121	0	121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	121	0
6. 25/01	63	0	63	39	0	39	9	0	9	0	0	0	118	0	118	129	52,7
7. 26/01	778	0	778	841	1	842	81	0	81	412	38	450	71	0	71	2.222	4
8. 27/01	2	0	2	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	5	17,9
9. 28/01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	26
10. 29/01	16	0	16	0	0	0	1	0	1	0	0	0	23	1	24	41	27,2
11. 30/01	393	0	393	145	0	145	0	0	0	521	0	521	0	0	0	1.059	12,4
12. 31/01	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	16	25,8
13. 01/02	25	0	25	120	0	120	23	0	23	4	1	5	0	0	0	173	20,6
14. 02/02	323	48	371	64	0	64	153	1	154	126	0	126	188	107	295	1.010	0
15. 03/02	17	0	17	86	55	141	98	0	98	0	14	14	0	29	29	299	0
16. 04/02	263	0	263	188	0	188	1	0	1	0	0	0	0	0	0	452	0
17. 05/02	0	16	16	49	0	49	105	1	106	0	0	0	0	0	0	171	32,6
18. 06/02	124	0	124	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	125	4,3
19. 07/02	73	0	73	114	0	114	3	0	3	0	0	0	0	0	0	190	0
20. 08/02	05	0	05	0	0	0	0	0	0	158	0	158	0	0	0	163	0
21. 09/02	217	0	217	111	0	111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	328	6,4
22. 10/02	22	0	22	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	11,5
23. 11/02	274	0	274	913	0	913	0	0	0	0	7	7	0	0	0	1.194	33,2
24. 12/02	347	0	347	82	0	82	28	0	28	0	0	0	0	0	0	457	0
25. 13/02	443	1	444	146	0	146	0	0	0	47	0	47	1	0	1	638	0
26. 14/02	126	0	126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0
27. 15/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
28. 16/02	0	02	02	74	0	74	0	0	0	0	0	0	0	1	1	75	0
29. 17/02	0	0	0	85	0	85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85	0
30. 18/02	26	0	26	38	0	38	3	0	3	18	0	18	0	0	0	85	0
31. 19/02	0	10	10	118	05	123	0	16	16	2	8	10	92	0	92	251	0
32. 20/02	84	24	108	466	12	478	0	0	0	17	1	18	44	0	44	648	5,4
33. 21/02	131	595	756	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	727	0
34. 22/02	422	0	422	0	0	0	65	5	70	0	0	0	0	0	0	492	0
35. 23/02	0	0	0	0	0	0	88	0	88	0	0	0	0	0	0	88	0
36. 24/02	0	2	2	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3,5
37. 25/02	200	4	204	0	0	0	9	0	9	0	0	0	65	11	76	289	1,7
38. 26/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	1
39. 27/02	173	0	173	0	0	0	0	0	0	57	0	57	1	0	1	231	0

Continuação ...

40. 28/02	174	0	174	142	0	142	22	0	22	0	0	0	18	0	18	356	0,8
41. 29/02	67	0	67	2	0	2	422	0	422	0	0	0	0	0	0	491	14,2
42. 01/03	0	0	0	91	0	91	117	0	117	274	84	358	114	22	136	702	0
43. 02/03	0	0	0	36	0	36	1	0	1	2	0	2	0	0	0	39	0
44. 03/03	592	0	592	293	0	293	6	0	6	1	12	13	0	16	16	920	17,8
45. 04/03	0	0	0	0	15	15	0	0	0	0	0	0	0	1	1	16	0
46. 05/03	54	0	54	81	0	81	2	7	9	0	0	0	1	0	1	145	7
47. 06/03	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
48. 07/03	0	0	0	0	1	1	9	1	10	0	0	0	29	0	29	40	0
49. 08/03	331	0	331	14	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	345	2
50. 09/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51. 10/03	1	3	4	1	0	1	0	1	1	0	2	2	0	2	2	10	0
52. 11/03	0	4	4	0	0	0	0	0	0	0	22	22	0	0	0	4	0
53. 12/03	371	0	371	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	371	0
54. 13/03	899	6	905	7	3	10	2	1	3	0	0	0	0	0	0	918	0
55. 14/03	1	0	1	0	50	50	2	0	2	0	0	0	3	0	3	56	11,6
56. 15/03	133	0	133	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	135	0,3
57. 16/03	6	1	07	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	9	0
58. 17/03	286	0	286	58	0	58	0	0	0	28	0	28	0	0	0	372	0
59. 18/03	464	0	464	103	0	103	0	3	3	0	0	0	0	0	0	570	2,8
60. 19/03	0	0	0	21	0	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0
61. 20/03	9	0	9	265	1	266	0	0	0	0	70	70	2	0	2	347	0,6
62. 21/03	169	1	170	62	0	62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	232	0
Total (nº)	9.522	722	10.244	5.389	148	5.537	1.292	40	1.332	1.739	192	1.931	774	212	986	20.030	356,8
Nº			50			44			31			23			27		

A= exposição das lâminas microscópicas das 8:00 às 20:00 h; B= exposição das 20:00 à 8:00 h;
 AB = exposição 24 h (somatório diário); ^xPrecipitação pluvial (mm); Fonte (Embrapa-Trigo,
 estação meteorológica número 83914); ^yNúmero de dias onde coletou-se conídios.

40. 28/02	135	0	135	36	0	36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	171	0,8
41. 29/02	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	14,2
42. 01/03	0	0	0	5	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	
Continuação ...																	
43. 02/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
44. 03/03	19	2	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	17,8	
45. 04/03	0	0	0	0	0	0	0	5	5	0	0	0	0	1	1	6	0
46. 05/03	0	0	0	2	0	2	1	0	1	0	3	3	0	0	0	6	7
47. 06/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	2	0
48. 07/03	2	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	6	0
49. 08/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	0	37	0	0	0	37	2
50. 09/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51. 10/03	25	0	25	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	27	0
52. 11/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53. 12/03	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
54. 13/03	0	0	0	2	1	3	116	0	116	0	0	0	0	0	0	119	0
55. 14/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11,6
56. 15/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3
57. 16/03	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
58. 17/03	14	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0
59. 18/03	0	131	131	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	135	2,8
60. 19/03	7	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0
61. 20/03	4	0	4	11	1	12	0	0	0	4	0	4	0	0	0	20	0,6
62. 21/03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total (n°)	1.390	280	1.670	882	72	954	552	101	653	471	30	501	373	18	391	4.169	356,8
N ^y			31			28			22			15			15		

A= exposição das lâminas microscópicas das 8:00 às 20:00 h; B= exposição das 20:00 às 8:00 h; AB = exposição 24 h (somatório diário); ^xPrecipitação pluvial (mm): Fonte (Embrapa-Trigo, estação meteorológica número 83914); ^yNúmero de dias onde coletou-se conídios.

