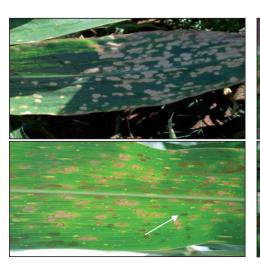
Boletim de Pesquisa 80 e Desenvolvimento ISSN 1679-0154 Dezembro, 2013

Nova Evidência Comprovando ser a Bactéria *Pantoea ananatis* o Agente Etiológico da mancha-branca-do-milho (mancha-de-*phaeosphaeria*)





Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Milho e Sorgo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80

Nova Evidência Comprovando ser a Bactéria *Pantoea ananatis* o Agente Etiológico da mancha-branca-do-milho (mancha-de-*phaeosphaeria*)

Eliseu dos Santos Pedro Ricardo Marcelo Gonçalves José Edson Fontes Figueiredo Walter Fernandes Meirelles Rodrigo Véras Costa Luciano Viana Cota Dagma Dionísia da Silva Luzia Doretto Paccola-Meirelles

Embrapa Milho e Sorgo Sete Lagoas, MG 2013 Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45 Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100 Fax: (31) 3027-1188

Home page: www.cnpms.embrapa.br E-mail: cnpms.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Dagma Dionísia da Silva, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro, Monica Matoso Campanha, Maria Marta Pastina, Rosângela Lacerda

de Castro e Antonio Claudio da Silva Barros.

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa Foto(s) da capa: Luzia Doretto Paccola-Meirelles

1ª edição

1ª impressão (2013): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Milho e Sorgo

Nova evidência comprovando ser a bactéria Pantoea ananatis o agente etiológico da mancha-branca-do-milho (mancha-de-phaeosphaeria) / Eliseu dos Santos Pedro ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

20 p.: il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 80).

1. Doença de planta. 3. Zea mays. 3. Antibiótico. I. Pedro, Eliseu dos Santos. II. Série.

CDD 632.32 (21, ed.)

Sumário

Kesumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	11
Agradecimentos	15
Referências	16

Nova Evidência Comprovando ser a Bactéria Pantoea ananatis o Agente Etiológico da manchabranca-do-milho (manchade-phaeosphaeria)

Eliseu dos Santos Pedro¹
Ricardo Marcelo Gonçalves²
José Edson Fontes Figueiredo³
Walter Fernandes Meirelles⁴
Rodrigo Véras Costa⁵
Luciano Viana Cota⁶
Dagma Dionísia da Silva⁷
Luzia Doretto Paccola-Meirelles⁸

Resumo

A mancha-de-*Phaeosphaeria* (MF), também conhecida como mancha-branca-do-milho (MBM), é uma das principais doenças foliares do milho no Brasil. Ela apresenta ampla distribuição nas áreas de produção de milho e pode causar perdas de produtividade de até 60%. Apesar da importância da doença, sua etiologia continua um assunto de controvérsia e debate. Diferentes espécies de fungos: *Phaeosphaeria maydis*, *Phoma sorghina* e *Sporormiella* sp., e a bactéria *Pantoea ananatis*

¹Graduando em Agronomia na Universidade Estadual de Londrina, Estagiário da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, eliseupedro@bol.com.br

²Engenheiro Agrônomo, Doutorando em Fitopatologia/Proteção de Plantas pela Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, goncalves.agrouel@gmail.com

³Biólogo, D.Sc. em Genética Molecular, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, jose.edson@embrapa. br

⁴Engenheiro Agrônomo, M.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisador da Embrapa e Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, walter.meirelles@embrapa.br

⁵Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, rodrigo. veras@embrapa.br

⁶Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Iuciano. cota@embrapa.br

⁷Engenheira Agrônoma, D.Sc em Fitopatologia, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, dagma. silva@embrapa.br

⁸Bióloga, Ph.D. em Fitopatologia, Professora Sênior da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, paccola@uel.br Autor para correspondência: José Edson Fontes Figueiredo Fax: +55.31.3027-1188 E-mail: jose.edson@embrapa.br

foram relatados como agentes causadores da doença MF/ MBM. No presente trabalho, são estudados o efeito inibitório do antibiótico Mycoshield (oxitetraciclina 17%) sobre o crescimento de *P. ananatis* in vitro e a sua eficácia no controle da doença MF/MBM no campo. Plantas de dois híbridos de milho (HS200 e DAS657) altamente suscetíveis a MF/MBM foram tratadas com o antibiótico (2 g/L) com três intervalos de aplicação (D1 = 30 , D2 = 45 e D3 = 60 dias após a semeadura). As aplicações de antibiótico reduziram as lesões MF/MBM em até 90% no campo, e diferentes doses (0,5 , 1, 2 , 3 e 3,5 g/L) de oxitetraciclina inibiram completamente o crescimento de *P. ananatis* in vitro. Esses resultados fornecem uma evidência adicional de que a bactéria *Pantoea ananatis* é o agente causador da doença de MF/MBM do milho, e não uma espécie de fungo, ou complexo de espécies fúngicas.

Palavras-chave: mancha-foliar-de-*Phaeosphaeria*, controle químico, *Pantoea ananatis*, *Erwinia ananas*, oxitetraciclina, etiologia

New Evidence Confirming the Bacterium Pantoea ananatis as the Causative Agent of Maize white Spot Disease (= *Phaeosphaeria* Leaf Spot)

Eliseu dos Santos Pedro¹
Ricardo Marcelo Gonçalves²
José Edson Fontes Figueiredo³
Walter Fernandes Meirelles⁴
Rodrigo Véras Costa⁵
Luciano Viana Cota⁶
Dagma Dionísia da Silva⁷
Luzia Doretto Paccola-Meirelles⁸

Abstract

The Phaeosphaeria leaf spot (PLS), also known as Maize White Spot (MWS), is a major foliar disease of corn in Brazil. The disease is widespread through the corn production areas and may cause yield losses of up to 60%. Despite the importance PLS/MWS disease, its etiology remains a subject of controversy and debate. Different fungi species: Phaeosphaeria maydis, Phoma sorghina and Sporormiella sp., and the bacterium Pantoea ananatis have been reported to be causative agents of PLS disease. In the present work, the inhibitory effect of the antibiotic Mycoshield (oxytetracycline 17 %) on growth of P. ananatis in vitro and its efficiency in controlling the PLS disease in the field are studied. Plants of two maize hybrids (HS200 and DAS657) highly susceptible to PLS were treated with the antibiotic (2 g/L) in three application interval (D1= 30, D2= 45 and D3= 60 days after sowing). The antibiotic applications reduced PLS/MWS lesions by 90% in the field, and different dosages (0.5; 1; 2; 3 and 3.5g/L) of oxytetracycline completely

inhibited the growth of *P. ananatis* in vitro. These results offer additional evidence that the bacterium *Pantoea ananatis* is the causative agent of PLS/MWS disease of corn instead of fungus species or fungi species complex.

Keywords: Phaeosphaeria leaf spot; *Pantoea ananatis, Erwinia ananas*; chemical control, oxytetracycline, etiology

Introdução

A mancha-branca-do-milho (Figura 1) é uma das principais doenças que acometem a cultura do milho no Brasil, com distribuição generalizada pelas áreas produtoras e relatos de severas perdas na produção.



Figura 1. Sintomas da doença mancha-branca-do-milho ou mancha-de-phaeosphaeria em folhas de plantas de milho cultivadas em campo. A flecha, na folha do canto inferior esquerdo, aponta para uma lesão no estádio inicial (Estádio 1), de acordo com a classificação proposta por Paccola-Meirelles, et al. (2001).

Os sintomas têm início com a formação de manchas cloróticas verde-escuras, com aspecto de encharcamento, chamadas de "anasarcas", que posteriormente se desenvolvem em manchas de coloração palha, espalhadas pela superfície foliar, causando necrose na região do tecido afetado (RANE et al., 1966; SHURTLEFF, 1984; FANTIN, 1994, 2009; 2010; CARSON, 1999; PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001). O agente causal desta doença tem sido alvo de discussão e controvérsias. Logo após a sua detecção no Brasil, ela foi relatada por Fantin (1994) como sendo a mancha-foliar-de-phaeosphaeria, a mesma descrita na Índia por Rane et al. (1966) e nos Estados Unidos por Carson et al., (1991), causada pelo ascomiceto Phaeosphaeria maydis (Henn.) Rane, Payak e Renfro (sin. Sphaerulinia maydis Henn.), anamorfo Phyllosticta sp. Apesar de o fungo P. maydis ter sido apontado como o agente causal da doença, vários autores descrevem a dificuldade no seu isolamento e na reprodução dos sintomas da doença sob condições controladas (SAWAZAKI et al., 1997; CERVELATTI et al., 2002; PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001).

Entretanto, Paccola-Meirelles et al. (2001) identificaram a bactéria *Pantoea ananatis* (syn. *Erwinia ananas*) como sendo o agente causal da doença e sugeriram a denominação de mancha-branca-do-milho (MBM) em substituição a mancha-foliar-de-phaeosphaeria. Os autores demonstraram a reprodução dos sintomas em plantas de milho inoculadas com *P. ananatis* sob condições controladas, concluindo os postulados de Koch.

Porém, as controvérsias aumentaram quando em 2004 o fungo *Phoma sorghina,* foi descrito como uma espécie associada às lesões da MBM (AMARAL et al., 2004). Em estudo posterior

realizado por Amaral et al. (2005), os fungos *P. sorghina, Phoma* sp. (Seção Plenodomus), *Phyllosticta* spp., e *Sporormiella* sp. foram postulados como agentes causadores dos sintomas da doença. No entanto, a incidência de cada uma dessas espécies foi restrita a uma condição ambiental específica e variou de acordo com as regiões e estações do ano. Esses autores sugeriram a existência de diferentes agentes causais provocando sintomas semelhantes aos da mancha-foliar-dephaeosphaeria. Carli (2008) também relatou a ocorrência de *P. sorghina* e *Phoma* sp. associados com a doença em seis ambientes diferentes, sendo que a espécie *P. sorghina* predominou em quatro locais e *Phoma* sp. mostrou-se muito frequente em dois deles.

Fernandes (2004) guestionou os resultados de Paccola-Meirelles et al. (2001), referentes à reprodução dos sintomas da MBM em plantas jovens sob condições controladas, justificando que a doença em campo é observada unicamente em plantas de milho em fase de florescimento e produção, e nunca em plântulas com idade inferior a 45 dias. No entanto, já foi confirmado que o ataque da doença vem ocorrendo de forma alarmante também em plantas jovens, sendo já observado no campo em cultura com 40 dias, podendo atingir a planta por completo (FANTIN, 1994; ROLIM et al., 2007). Fantin (2009, 2010) afirmou ser a doença mancha-branca-do-milho descrita por Paccola-Meireles et al. (2001) distinta da mancha-foliarde-phaeosphaeria. Fantin (2009) argumenta que as lesões produzidas pela mancha-de-phaeosphaeria são geralmente arredondadas, e que a bactéria P. ananatis causa manchas elípticas, as quais seguem a direção das nervuras. Contudo, a autora não apresenta dados científicos comprovando tais afirmações. Diferentemente, vários autores descrevem as

lesões da mancha-branca/mancha-de-phaeosphaeria variando, na forma, de circulares a elípticas, com 0,3 a 2 cm de diâmetro, podendo coalescerem e tornarem-se irregulares (FERNANDES; OLIVEIRA, 1997; PACCOLA-MEIRELLES et al., 1998; 1999; PARENTONI et al., 1996). Portanto, é necessário esclarecer que, em ambos os casos, trata-se da mesma doença cuja etiologia está sendo atribuída a agentes etiológicos diferentes.

O fato de alguns fungicidas mostrarem-se eficientes no controle da doença (PINTO; FERNANDES, 1995; PINTO, 2004; COSTA et al., 2012) contribuiu para a aceitação, quase unânime, do fungo como o agente etiológico da doença. Contudo, estudo realizado por Bomfeti et al. (2007) demonstrou de forma inequívoca que os fungicidas que são eficazes para o controle da doença no campo também inibem o crescimento da bactéria *Pantoea ananatis* in vitro, e que os fungicidas ineficazes para o controle da doença no campo não apresentam atividade inibidora sobre o crescimento de *P. ananatis*.

Considerando as opiniões discordantes sobre a identidade do agente causal da doença mancha-de-phaeosphaeria/mancha-branca, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de um agente bactericida no crescimento de *Pantoea ananatis* in vitro, e sua eficiência na redução da incidência de lesões da MBM em campo.

No presente trabalho, foi avaliado o efeito inibitório do antibiótico Mycoshield® (17% oxitetraciclina) no controle do crescimento de *P. ananatis* em laboratório e sua eficiência no controle da doença em campo. Folhas de milho com sintomas da MFP foram coletadas de plantas crescidas no campo, na fase de pendoamento. As folhas foram lavadas com sabão

neutro e secas com papel esterilizado. As lesões que se encontravam no estádio 1 (PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001) e caracterizadas pela presença de manchas cloróticas verde-escuras, com aspecto de encharcamento ("anasarcas"), foram destacadas das folhas e utilizadas para isolamento da bactéria *Pantoea ananatis*. Após a identificação bioquímica e molecular, a linhagem E19 foi cultivada em meio Nutriente Ágar (10° UFC) na presença de diferentes concentrações do antibiótico (0,5; 1; 2; 3 e 3,5g/l de meio de cultivo). O crescimento bacteriano no mesmo meio sem o antibiótico foi utilizado como controle. Foram feitas cinco repetições por tratamento. O material foi incubado durante 48 horas no escuro a 30 °C e as colônias crescidas foram contadas em um contador eletrônico de colônias.

No campo, dois híbridos de milho (HS200 e DAS657), altamente suscetíveis à MBM, foram semeados. Após 30 dias da emergência, em intervalos de 15 dias, as plantas receberam três aplicações do antibiótico (2g/L). As plantas-controles foram pulverizadas com água destilada. As avaliações foram realizadas quando a planta atingiu o estágio fenológico 7, segundo a escala proposta por Fancelli (1986), cerca de 24 dias após a polinização, caracterizado pela presença de grãos em estado pastoso. As primeiras oito folhas de cada planta foram avaliadas através da contagem do número de lesões por folha. Vinte plantas de cada híbrido foram avaliadas e os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) no esquema fatorial 2 x 2, sendo duas cultivares e dois tratamentos (tratado e controle).

Todas as doses do antibiótico Mycoshield inibiram completamente o crescimento da bactéria *P. ananatis* in vitro.

A eficiência deste antibiótico também pode ser comprovada em campo para ambos os híbridos suscetíveis, HS200 e DAS657 (Tabela 1, Figuras 2 e 3), com redução próxima a 90% no número de lesões por folha (Tabela 1) sem diferença significativa entre eles.

Tabela 1. Efeito inibidor do antibiótico Mycoshield® (17% oxitetraciclina) sobre o número de lesões de MBM por folha em dois híbridos de milho altamente suscetíveis (BRHS 200 e DAS 657) cultivados em campo (teste de Tukey p≤0.05).

Cultivar	BRHS200	DAS657
Tratamento com Mycoshield	58 a	22a
Controle	297b	255b



Figura 2. Plantas de milho da cultivar BRHS200. (A) Aplicação do antibiótico Mycoshield® (17% oxitetraciclina); (B) Testemunha (aplicação de água destilada).



Figura 3. Plantas de milho da cultivar DAS 657. (A) Aplicação de antibiótico Mycoshield[®] (17% oxitetraciclina); (B) Testemunha (aplicação de água destilada).

Pinto (2004) e Pinto e Fernandes (1995) avaliaram a eficácia de alguns fungicidas, entre eles o Mancozeb e o Benomyl, no controle da MBM em condições naturais de infecção. O Mancozeb foi efetivo no controle da doença, o que foi considerado como uma evidência de que os fungos deveriam ser os agentes etiológicos dela. Plantas tratadas com o fungicida Benomyl apresentaram os sintomas da doença, porém, as lesões eram destituídas de estruturas reprodutivas de quaisquer espécies de fungos (PINTO; FERNANDES, 1995). Os autores concluíram ser o Benomyl, para esta doença específica, um agente fungistático e não fungicida, visto que o produto afetou apenas a formação das estruturas de reprodução do fungo. Com bases nestas informações, Bomfeti et al. (2007) avaliaram o comportamento da bactéria P. ananatis, quando cultivada na presença desses mesmos agroquímicos, assim como o potencial destes no controle da doença em condições de infecção natural em campo. Esses autores demonstraram uma inibição total do crescimento da bactéria em laboratório quando cultivada em presença do Mancozeb. A aplicação deste

fungicida também resultou em controle eficiente da doença em campo em concordância com os resultados obtidos por Pinto (2004) e Pinto e Fernandes (1995). Os demais produtos avaliados permitiram o crescimento da bactéria em laboratório e não foram eficientes no controle da doença em campo. Ainda segundo Bomfeti et al. (2007), o Benomyl não mostrou qualquer efeito inibitório no crescimento da bactéria in vitro explicando os resultados de Pinto e Fernandes (1995) quando da aplicação deste fungicida em campo. Bomfeti et al. (2007) relacionaram a ausência de estruturas reprodutivas fúngicas nas lesões da mancha-branca descrita por Pinto e Fernandes (1995), após o tratamento das plantas com o fungicida Benomyl, à atividade inibidora do fungicida sobre os fungos oportunistas que colonizam as lesões previamente provocadas pela bactéria. Como Benomyl não inibiu o crescimento de P. ananatis, os sintomas da doença persistiram no campo (BOMFETI et al., 2007).

Na África do Sul também foi observado que o Benomyl não proporciona controle adequado da mancha-de-phaeosphaeria/ MBM (FLETT et al., 1996; KLOPPERS; TWEER, 2009). O fungicida Benomyl é seletivo para microtúbulos de fungos e age provocando despolimerização dos microtúbulos do citoesqueleto durante a meiose (HOCHWAGEN et al., 2005). Além disso, o Benomyl causa pareamento parcial dos cromossomos meióticos e interrupção do ciclo celular na fase G2. A despolimerização dos microtúbulos provoca mudanças complexas no padrão de expressão dos genes meiose-específicos, bem como alterações na expressão de *loci* gênicos importantes para a progressão do ciclo celular (HOCHWAGEN et al., 2005).

Neste trabalho não foi avaliada a produtividade na cultura após a aplicação do antibiótico, pois não foi nosso objetivo fazer uma recomendação de produto visando a produção do milho, mas sim apresentar mais uma evidência que, sendo a doença causada por uma bactéria, a aplicação de um produto que a iniba in vitro deveria também inibi-la em campo. Estudos realizados por Costa et al. (2012) demonstraram que os antibióticos oxitetraciclina e kasugamicina apresentaram baixa ou intermediária eficiência no controle da MBM em condição de campo.

Concluindo, a redução significativa no número de lesões foliares de aproximadamente 90% com a aplicação do bactericida oxitetraciclina nas plantas do milho em campo, associada à inibição do crescimento de *P. ananatis* quando cultivada em laboratório em presença do mesmo bactericida, constitui uma comprovação adicional de que a doença manchabranca-do-milho, previamente designada como mancha-dephaeosphaeria e cuja etiologia ainda tem sido equivocadamente atribuída a diferentes espécies de fungos, é causada pela bactéria *Pantoea ananatis*, conforme foi postulado por Paccola-Meirelles et al. (2001), e não por um fungo ou um complexo de espécies fúngicas, como descrito por outros autores (RANE et al., 1966; CARSON et al., 1991; FANTIN, 1994; AMARAL et al., 2004, 2005; CARSON, 2001, 2005; CARLI, 2008).

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, à Fundação Araucária, Capes, Universidade Estadual de Londrina e Embrapa pelos suportes técnicos e financeiros.

Referências

AMARAL, A. L.; SOGLIO, F. K.; CARLI, M. L.; NETO, J. F. B. Pathogenic fungi causing symptoms similar to Phaeosphaeria leaf spot of maize in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 44-49, 2005.

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

BOMFETI, C. A.; MEIRELLES, W. F.; SOUZA-PACCOLA, E. A.; CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; MARRIEL, I. E.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D. Evaluation of commercial chemical products, *in vitro* and *in vivo* in the control of foliar disease, maize white spot, caused by *Pantoea ananatis*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 63-67, 2007.

CARLI, M. L. Etiological and epidemiological aspects of the maize white leaf spot complex. 2008. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CARSON, M. L. Yield loss potential of phaeospharia leaf spot of maize caused by *Phaeosphaeria maydis* in the United States. Plant Disease, Saint Paul, v. 89, p. 986-988, 2005.

CARSON, M. L. Inheritance of resistance to phaeosphaeria leaf spot of maize. Plant Disease, Saint Paul, v. 85, p. 798-800, 2001.

CARSON M. L. Vulnerability of U.S. maize germplasm to phaeosphaeria leaf spot. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, p. 462-464, 1999.

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

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

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

FANCELLI, A. L. Plantas alimentícias: guia para aula, estudos e discussão. Piracicaba: CALQ, 1986. 131 p.

FANTIN, G. M. Mancha de Phaeosphaeria, doença do milho que vem aumentando sua importância. Biológico, Campinas, v. 56, p. 39, 1994.

FANTIN, G. M. Mancha de Phaeosphaeria do milho. São Paulo: Instituto Biológico, 2009. (Instituto Biológico. Comunicado Técnico, 107). Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=107>. Acesso em: 23 maio 2013.

FANTIN, G. M. Mancha de Phaeosphaeria em milho causada por fungo. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, p. 6-8, 2010.

FERNANDES, F.T. Mancha por *Phaeosphaeria* em milho. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho**: molicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria. Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica, 2004. p. 268-276.

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1997. 80 p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 26).

FLETT, B. C.; BENSCH, M. J.; SMIT, E.; FOURIE, H. A field guide for identification of maize diseases in South Africa. Potchefstroom: ARC-LNR, 1996.

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

HOCHWAGEN, A.; WROBEL, G.; CARTRON, M.; DEMOUGIN, P.; NIEDERHAUSER-WIEDERKEHR, C.; BOSELLI, M. G.; PRIMIG, M.; AMON, A. Novel response to microtubule perturbation in meiosis. Molecular and Cellular Biology, Washington, v. 25, p. 4767-4781, 2005.

KLOPPERS, R.; TWEER, S. Maize diseases: Phaeosphaeria leaf spot. Greytown: PANNAR Seed, 2009. Disponível em: http://www.plantwise.org/FullTextPDF/2011/20117800336.pdf>. Acesso em: 22 maio 2013.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; MARRIEL, I. E.; MEIRELLES, W. F. Detection of a bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 24, p. 314-315, 1999.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; MEIRELLES, W. F.; CERVELATTI, E. P.; MAKI, C. S.; CASELA, C. R.; FERNANDES, F.T.; FERREIRA, A. S. Caracterização morfológica das lesões da mancha foliar por Phaeosphaeria em híbridos de milho e avaliação da incidência do estádio sexuado e assexuado do patógeno. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife. Globalização e segurança alimentar: resumos. Recife: IPA, 1998. 1 CD-ROM.

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

PARENTONI, S. N.; FERNANDES, F.T.; GAMA, E. E. G.; LOPES, M. A.; GUIMARÃES, P. E. P.; SANTOS, M. X.; SILVA, A. E. Efeito de níveis de nitrogênio sobre a severidade da doença foliar causada por Phaeosphaeria maydis em milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 21., 1996, Londrina, PR. **Resumos**... Londrina: IAPAR, 1996. p. 164.

PINTO, N. F. J. A. Controle químico de doenças foliares em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, p. 134-138, 2004.

PINTO, N. F. J. A.; FERNANDES, F.T. Avaliação de fungicidas no controle da mancha foliar de milho causada por *Phyllosticta* sp.

(*Phaeosphaeria maydis*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 333, 1995.

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

ROLIM, G. S.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; FANTIN, G. M.; BRUNINI, O.; DUARTE, A. P.; DUDIENAS, C. Modelo agrometeorológico regional para estimativa da severidade da mancha de Phaeosphaeria em milho safrinha no Estado de São Paulo, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 721-728, 2007.

SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GALVÃO, J. C. C.; CASTRO, J. L.; PEREIRA, J. Reação de cultivares de milho à mancha de *Phaeosphaeria* no estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 585-589, 1997.

SHURTLEFF, M. C. Phaeosphaeria leaf spot. In: SHURTLEFF, M. C. (Ed.). Compendium of corn diseases. **American Phytopathological Society**, St. Paul, 1984. p. 23-24.





