

Monitoramento da ocorrência de enfezamentos e da cigarrinha *dalbulus maidis* na cultura de milho nos estados de Sergipe, Bahia e Alagoas na safra 2014

Jessica Marcy Silva Melo Santo¹, Viviane Talamini², Elizabeth de Oliveira Sabato³, Frederico Alberto de Oliveira⁴, Charles Martins de Oliveira⁵

Resumo

Enfezamento-pálido e enfezamento-vermelho são doenças causadas em milho por mollicutes denominados espiroplasma e fitoplasma respectivamente. Estes são organismos sem parede celular, com apenas uma membrana envolvendo o citoplasma e são encontrados restritos ao floema de plantas infectadas, causando sintomas como clorose nas margens das folhas do cartucho, avermelhamento das folhas mais velhas, redução no tamanho da planta e proliferação de espigas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência dos enfezamentos e da cigarrinha *Dalbulus maidis*, vetaora dos mollicutes, na cultura do milho em municípios de Sergipe, Bahia e Alagoas. Para tanto, foram realizadas análises das plantas por inspeção visual e coleta de plantas sintomáticas e coleta de insetos com rede entomológica em lavouras localizadas nos principais municípios produtores de milho. Plantas com sintomas típicos dos enfezamentos foram analisadas por meio do PCR multiplex para detecção simultânea de fitoplasma e espiroplasma. A espécie de cigarrinha *D. maidis* foi coletada em três dos municípios visitados: Poço Redondo, SE, São Sebastião, AL e São Miguel, AL. Sintomas típicos do enfezamento vermelho bem como PCR positivo para fitoplasma foram observados a partir

¹ Estudante de Engenharia Agrônoma da UFS, bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE.

² Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

³ Bióloga, doutora em Agronomia, pesquisadora em Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor, professor da Faculdade AGES, Paripiranga, BA.

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

das amostras provenientes dos municípios de Paripiranga, BA, Carira, SE e São Miguel, AL.

Palavras-chave: cigarrinha, *Dalbulus maidis*, enfezamento-vermelho, molicutes.

Introdução

A determinação das causas de baixa produtividade do milho no Nordeste é essencial para permitir que sejam adotadas práticas de manejo que possam contribuir para aumentar a produtividade desse cereal na região. Entre os diversos fatores que podem contribuir para a baixa produtividade do milho incluem-se as doenças, como o enfezamento-pálido causado pelo Corn Stunt Spiroplasma (espiroplasma) e enfezamento-vermelho causado pelo Maize Bushy Stunt Phytoplasma, (fitoplasma) classificados como molicutes e as viroses, cujos agentes causais são disseminados por insetos vetores.

Os molicutes são transmitidos de forma persistente propagativa pela cigarrinha *Dalbulus maidis* e esse inseto-vetor, que se multiplica apenas no milho, têm ampla ocorrência nas lavouras das regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste (OLIVEIRA et al., 2003). Em geral, a maior incidência dos enfezamentos tem sido detectada em plantios tardios e em plantios de safrinha, sendo explicada pelas sobreposições dos ciclos da cultura e por condições climáticas favoráveis à proliferação do vetor e ao desenvolvimento da doença (OLIVEIRA et al., 2003).

Contudo, há carência de informações sobre a ocorrência desses insetos vetores, bem como dos enfezamentos no milho na Região Nordeste, onde essa cultura tem se tornado cada vez mais expressiva. Neste projeto pretende-se avaliar e mapear a incidência de *D. maidis* e de enfezamentos e identificar as espécies de cigarrinhas presentes na cultura do milho nos estados de Sergipe, Bahia e Alagoas.

Material e Métodos

Inicialmente foram determinados os municípios a serem monitorados como base nos mapas de áreas cultivadas com milho no Estado de Sergipe e municípios vizinhos pertencentes aos estados da Bahia e Alagoas. Após a determinação dos municípios foram iniciadas as visitas para monitoramento e amostragens para avaliar a incidência de mollicutes e captura das cigarrinhas. Foi utilizado um GPS para obtenção das coordenadas geográficas de cada lavoura amostrada.

As amostragens das plantas foram feitas por inspeção visual das plantas em três pontos ao acaso de cada lavoura avaliada por meio de caminhamento em três fileiras de milho com pelo menos trinta plantas cada. As amostras de folhas com sintomas típicos dos enfezamentos foram coletadas e preservadas em caixas térmicas com gelo, em campo. No laboratório as amostras foram armazenadas em freezer. Anotações da época da semeadura da lavoura e do estágio fonológico das plantas foram realizadas no momento das coletas.

Para monitoramento das cigarrinhas, três pontos tomados ao acaso em cada lavoura foram avaliados, para composição de cada amostra. A coleta em cada um desses pontos foi feita através de 30 movimentos da rede entomológica entre fileiras de plantas de milho, em um espaço de cerca de 10 m. Os insetos coletados foram colocados em sacos de plástico e armazenados em caixas térmicas com gelo. No laboratório os insetos coletados foram colocados em freezer por cerca de 20 minutos para morrer. Após foram transferidos para frascos de vidro contendo álcool 70% e enviados para o pesquisador Charles Martins da Embrapa Cerrados, que fez a identificação dos insetos em nível de espécie.

A detecção dos mollicutes nas plantas com sintomas que foram coletadas e conservadas no laboratório foi feita utilizando PCR multiplex para detecção simultânea de espiroplasma e de fitoplasma conforme metodologia de Barros et al. 2001 e Oliveira et al. (2002). Para tanto, a extração do DNA foi conduzida segundo protocolo de Saghai-Marroof et al. (1984) modificado e a detecção de espiroplasma e de fitoplasma foi feita utilizando-se respectivamente, os seguintes pares de oligonucleotídeos: CSSF2: 5'- GGC AAA AGA TGT AAC AAA AGT-3' e CSSR6: 5'-GTT ACT TCA ACA GTA GTT GCG- 3' (Barros et al., 2001); e R16F2: 5'-ACG ACT GCT GCT AAG ACT GG-3' e R16R2: 5'-TGA

CGG GCG GTG TGT ACA AAC CCC G-3' Lee et al. (1993). Foram utilizadas as condições de reação descritas por Lee et al. (1993) em PCR multiplex.

Resultados e Discussão

O monitoramento da incidência de mollicutes e de cigarrinhas *Dalbulus maidis* em áreas de plantio de milho na safra 2014 foi realizado em lavouras localizadas nos municípios de Itabaiana, Frei Paulo, Pinhão, Carira, Pedra Mole, Nossa Senhora das Dores, Poço Redondo, Monte Alegre, Nossa Senhora da Glória, Feira Nova, em Sergipe, Paripiranga na Bahia e São Sebastião, Junqueiro, Arapiraca e São Miguel, em Alagoas.

Plantas com sintomas (Figura 1) foram coletadas nos municípios de Paripiranga na Bahia, Frei Paulo, Carira, Pinhão, Pedra Mole, Nossa Senhora das Dores, Monte Alegre, Nossa Senhora da Glória em Sergipe e São Sebastião e São Miguel em Alagoas, e submetidas ao PCR multiplex para detecção simultânea dos mollicutes (fitoplasma e espiroplasma), em laboratório, em que confirmou a presença do fitoplasma nos municípios de Paripiranga, BA, Carira, SE e São Miguel, AL (Figura 2).

Após a identificação dos insetos em nível de espécie, foi possível constatar a presença da cigarrinha *Dalbulus maidis*, vetor dos mollicutes (fitoplasma e espiroplasma), em três dos municípios visitados sendo estes, Poço Redondo – SE (quatro exemplares), São Sebastião, AL (18 exemplares) e São Miguel, AL (14 exemplares).

Foto: Jessica Marcy



Figura 1. Sintomas de enfezamento em espigas de milho (proliferação de espigas em um único ponto).

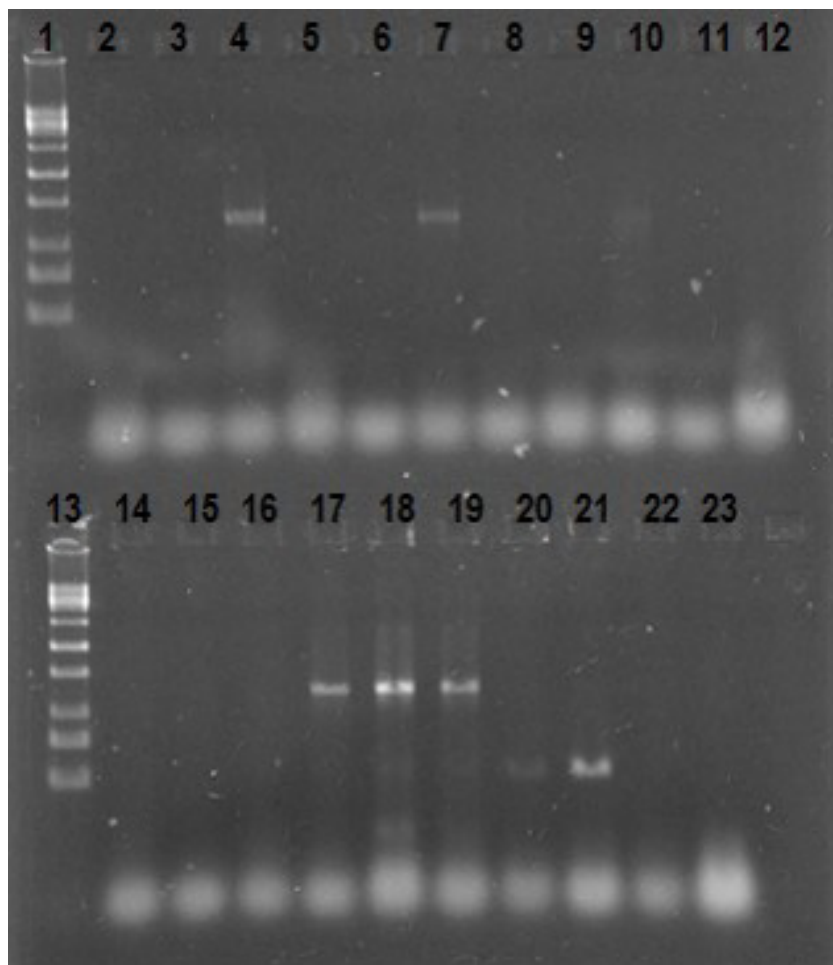


Figura 2. Resultado do PCR multiplex para detecção simultânea de espiroplasma e de fitoplasma em amostras de milho proveniente de diferente municípios: 1- Marcador 1Kb; 2- Paripiranga, BA; 3- Paripiranga, BA; 4- Paripiranga, BA; 5- Paripiranga, BA; 6- Frei Paulo, SE; 7- Carira, SE; 8- Carira, SE; 9- Pinhão, SE; 10- Pedra Mole, SE; 11- Nossa Senhora Das Dores, SE; 12- Nossa Senhora Das Dores, SE; 13- Monte Alegre, SE; 14- Marcador 1Kb; 15- Nossa Senhora Da Glória, SE; 16- São Sebastião, AL; 17- São Miguel, AL; 18 e 19- Controle Positivo Fitoplasma; 20 e 21- Controle Positivo Espiroplasma; 22- Controle Negativo; 23- Controle Negativo.

Conclusões

A presença do fitoplasma causador do enfezamento vermelho na safra 2014 foi detectado em três dos municípios monitorados, sendo estes Paripiranga, BA, Carira, SE e São Miguel, AL. Também foi constatada a presença da cigarrinha (*D. maidis*) nos municípios de Poço Redondo, SE, São Sebastião, AL e São Miguel, SE.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, à Embrapa Tabuleiros Costeiros e à Embrapa Milho e Sorgo pelo apoio financeiro.

Referências

- BARROS, T. S. L.; DAVIS, R. E.; RESENDE, R. O. Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt spiroplasma, *Spiroplasma kunkelii*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 85, p. 475-480, 2001.
- LEE, I. M.; HAMMONS, R. W.; DAVIS, R. E.; GUNDERSEN, D. E. Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms. **Phytopathology**, St. Paul, v.83, n.8, p. 834-842, 1993.
- OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M.; SOUZA, I. R. P.; MAGALHÃES, P. C.; CRUZ, I. Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos mollicutes e interações com genótipos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 53-62, 2002.
- OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. O.; GIMÉNEZ PECCI, M. L. P.; LAGUNA, I. G.; HERRERA, P.; CRUZ, I. Ocorrência e perdas causadas por mollicutes e vírus na cultura do milho safrinha no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 19-25, jan. 2003.

SAGHAI MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley, Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 81, p. 8014- 8018, 1984.