

Monitoramento da Incidência de Enfezamentos Causados por Molicutes e de Cigarrinhas na Cultura de Milho no Estado de Sergipe

Jessica Marcy Silva Melo Santo¹; Viviane Talamini²; Elizabeth de Oliveira Sabato³; Frederico Alberto de Oliveira⁴; Carlos Carneiro Dos Santos⁵

Resumo

Enfezamento-pálido e enfezamento-vermelho são doenças causadas em milho por molicutes (espiroplasma e fitoplasma), organismos sem parede celular, com apenas uma membrana envolvendo o citoplasma e são encontrados restritos ao floema de plantas doentes, 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 incidência de enfezamentos e da cigarrinha *Dalbulus maidis*, vetora dos molicutes, na cultura do milho em Sergipe. Para tanto, foram realizadas análises das plantas por inspeção visual e coleta de insetos com rede entomológica em lavouras localizadas nos principais municípios produtores de milho de Sergipe. 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 no município de Simão Dias e plantas com enfezamento-vermelho foram detectados em lavoura localizada no mesmo município. Este é o primeiro relato da ocorrência do enfezamento-vermelho em Sergipe.

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

¹ Graduanda de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcymeloo@hotmail.com.

² Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, viviane.talamini@embrapa.br.

³ Pesquisadora em Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, elizabeth.o.sabato@embrapa.br.

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Faculdade AGES, Paripiranga, BA, fredericoalberto@yahoo.com.

⁵ Graduando de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Sergipe, bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, carloscsantos@bol.com.br.

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. Dentre os diversos fatores que podem afetar a 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 mollicutes, cujos agentes causais são disseminados por insetos vetores.

Os mollicutes são transmitidos de forma persistente propagativa pela cigarrinha *Dalbulus maidis* e esse inseto-vetor têm ampla ocorrência nas lavouras de milho 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 em milho na Região Nordeste, onde essa cultura tem se tornado cada vez mais expressiva. Neste trabalho pretende-se avaliar a incidência de enfezamentos e a ocorrência de *D. maidis* na cultura do milho no Estado de Sergipe.

Material e Métodos

Para avaliação da incidência de plantas de milho com sintomas de enfezamentos e da ocorrência de cigarrinhas foi feita a determinação dos principais municípios produtores de milho de Sergipe. A primeira avaliação foi feita cerca de 30 dias após a semeadura do milho e em um segundo período as avaliações foram feitas quando as plantas estavam em estágio reprodutivo, cerca de 65 dias após o plantio. As amostragens das plantas foram feitas por inspeção visual das plantas em três pontos ao acaso da lavoura por meio de caminhar em três fileiras de milho com pelo menos trinta plantas cada.

Amostras de folhas com sintomas de enfezamentos foram coletadas, preservadas em caixas térmicas com gelo, em campo e em freezer, em laboratório, e utilizadas nas análises para detecção de mollicutes. A detecção dos mollicutes nas plantas

com sintomas foi feita através de teste de PCR. Para tanto a extração do DNA foi conduzida segundo protocolo de Saghai-Marooof 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.

Para coleta das cigarrinhas, em cada lavoura foram amostrados três pontos tomados ao acaso, para composição de uma 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 10m. Os insetos coletados foram colocados em sacos de plástico, armazenados em caixa térmica, com gelo, e posteriormente colocados por cerca de 20 minutos em freezer. Esses insetos foram transferidos para frascos de vidro contendo álcool 70%. Sob microscópio estereoscópico, as cigarrinhas foram contadas, separadas e preservadas em álcool 70%.

Resultados e Discussão

A avaliação da incidência de mollicutes e de cigarrinhas *Dalbulus maidis* em áreas de plantio de milho na safra 2012 em Sergipe foi realizada em lavouras localizadas nos seguintes municípios: Carira, Simão Dias, Lagarto, Frei Paulo, Nossa Senhora da Glória, Nossa Senhora Aparecida e Nossa Senhora das Dores (Figura 1). Em cada município em média sete lavouras foram avaliadas.



Figura 1. Mapa do Estado de Sergipe com marcação dos municípios nos quais foram realizadas inspeções e coletas para detecção de cigarrinhas *Dalbulus maidis* e de sintomas de enfezamentos causados por mollicutes na cultura do milho.

No primeiro monitoramento que teve início em agosto de 2012, as lavouras estavam em estágio vegetativo de desenvolvimento. Mesmo sendo esta fase a ideal para captura de cigarrinhas com a rede entomológica a espécie *D. maidis* somente foi detectada no município de Simão Dias.

Em um segundo período de monitoramento quando as plantas já estavam em estágio reprodutivo foram realizadas novas visitas às mesmas lavouras amostradas no primeiro momento. Quando as plantas estão em estágio reprodutivo os sintomas de enfezamentos são mais facilmente visualizados. Nestas visitas foram coletadas folhas e espigas com sintomas suspeitos de enfezamentos (Figura 2), somente em uma lavoura localizada no povoado Lagoa Seca no município de Simão Dias. Neste local 100% das plantas avaliadas apresentaram sintomas do enfezamento-vermelho. Pela análise de PCR foi possível detectar a presença do fitoplasma nas amostras analisadas provenientes deste local (Figura 3). O monitoramento desta doença e de seu vetor (*D. maidis*) é fundamental para

prever danos à cultura do milho em plantios futuros, principalmente devido a grande importância desta cultura para o Estado de Sergipe.



Viviane Talamini

Figura 2. Sintomas do enfezamento-vermelho em folhas e em espigas de milho em plantio localizado em Simão Dias - SE.

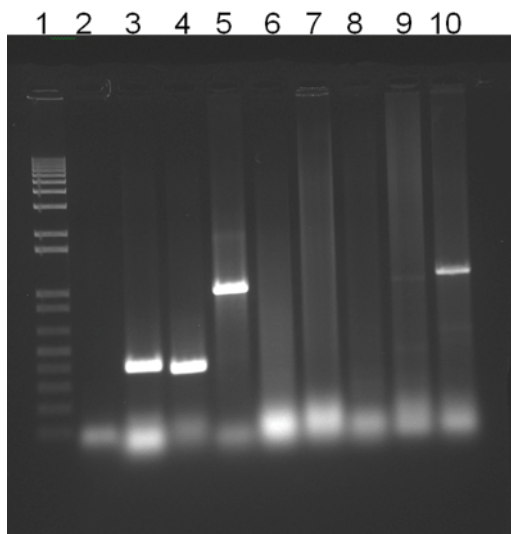


Figura 3. Resultado do PCR multiplex para detecção simultânea de espiroplasma e de fitoplasma em amostras de folhas e espigas de milho coletadas em Simão Dias, SE. 1- Marcador 1 Kb; 2- Controle negativo; 3- Planta Spiroplasma; 4- Controle Spiroplasma; 5- Controle Fitoplasma; 6- Folha 1; 7- Folha 2; 8- Folha 3; 9- Espiga grande; 10- Espiga pequena.

Conclusões

O fitoplasma causador do enfezamento-vermelho, bem como a cigarrinha *D. maidis* foram detectados em plantio de milho em Sergipe.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, à Embrapa Tabuleiros Costeiros e à Embrapa Milho e Sorgo pela estrutura laboratorial e transporte para as viagens, à Emdagro que nos indicou os principais municípios com produção de milho e aos agricultores de Sergipe que permitiram que suas lavouras fossem avaliadas.

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 molicutes 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 molicutes e vírus na cultura do milho safrinha no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, 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.