



DIAGNOSE MOLECULAR DO COMPLEXO DOS ENFEZAMENTOS DO MILHO EM ÁREA EXPERIMENTAL DA FEAGRI

Júlia **Pagliarani**¹; Nicolas Dallorto Alves **Silva**²; João Pedro Mantoan Nogueira **Bastos**³; Fernanda **Rausch-Fernandes**⁴

Nº 25604

RESUMO – O enfezamento do milho é causado por mollicutes (bactérias da classe Mollicutes) *Spiroplasma kunkelii* (Corn Stunt Spiroplasma - CSS) e Maize Bushy Stunt Phytoplasma (MBSP), além do vírus da risca, Maize rayado fino virus (MRFV, gênero Marafivirus, família Tymoviridae), que são transmitidos pela cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (Hemiptera, Cicadellidae). O modo de transmissão é persistente (após a aquisição dos fitopatógenos, a cigarrinha se torna infectiva por praticamente toda vida) e propagativo (os fitopatógenos circulam e se multiplicam no interior da cigarrinha). Esses fitopatógenos co-habitam os vasos do floema do milho e a doença causada por esse complexo é considerada o maior desafio para a cultura nos últimos anos. O estudo foi conduzido no campo experimental da Faculdade de Engenharia Agrícola (FEAGRI) da Universidade Estadual de Campinas, localizado no município de Campinas, entre as coordenadas geográficas de 22°53'20" de Latitude sul e o meridiano 47°04'40" de Longitude oeste de Greenwich. Plantas de milho exibindo sintomas típicos do complexo dos enfezamentos foram coletadas e submetidas à detecção molecular dos fitopatógenos associados ao complexo dos enfezamentos do milho. Foi realizada a extração de ácidos nucleicos totais pelo método CTAB, com modificações. A qualidade do DNA extraído foi aferida e as amostras seguirão para a detecção molecular dos mollicutes. Os oligonucleotídeos utilizados para a detecção molecular do espiroplasma (CSSF2: 5'-GGCAAAAGATGTAACAAAAGT-3' / CSSR6: 5'-CGCAACTACTGTTGAAGTAAC-3') e do fitoplasma (nested PCR, R16mF2: 5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3' e R16mR1: 5'-CTTAACCCCAATCATCGAC-3', R16F2n: 5'-GAAACGACTGCTAAGACTGG-3' e R16R2: 5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3') estão sendo utilizados em reações de ajuste com amostras de plantas e insetos como controles positivo

Palavras-chaves: *Zea mays*, mollicutes, complexo de mollicutes e viroses, fitopatógenos.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, Unicamp, Campinas-SP; j259128@dac.unicamp.br

2 Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, Unicamp, Campinas-SP; n213915@dac.unicamp.br

3 Estudante: Graduação em Biotecnologia, UFSCar, São Carlos-SP; joao.bastos@estudante.ufscar.br

4 Orientadora: Pesquisadora da Embrapa Agricultura Digital, Campinas-SP; fernanda.rausch@embrapa.br



ABSTRACT – Corn stunt complex is caused by mollicutes (bacteria from the Mollicutes class) *Spiroplasma kunkelii* (Corn Stunt Spiroplasma - CSS) and Maize Bushy Stunt Phytoplasma (MBSP), as well as Maize rayado fino virus (MRFV, Marafivirus genus, Tymoviridae family), which are transmitted by the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (Hemiptera, Cicadellidae). These pathogens are vectored by the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). Transmission is both persistent - meaning that once the vector acquires the pathogens, it remains infectious for most of its lifespan - and propagative, as the pathogens circulate and replicate within the insect's body. These agents colonize the phloem vessels of maize plants, and the disease associated with this complex is recognized as a major threat to current maize production systems. The study was conducted at the experimental field of the Faculty of Agricultural Engineering (FEAGRI) at the State University of Campinas, in Campinas, São Paulo state, Brazil, at the geographic coordinates 22°53'20" South Latitude and 47°04'40" West Longitude from Greenwich. Maize plants showing typical symptoms of the corn stunt complex were collected and subjected to molecular detection of the pathogens associated with the disease. Total nucleic acids were extracted using the CTAB method with modifications. The quality of the extracted DNA was assessed, and the samples will be processed for molecular detection of mollicutes. The oligonucleotides used for the molecular detection of spiroplasma (CSSF2: 5'-GGCAAAAGATGTAACAAAAGT-3' / CSSR6: 5'-CGCAACTACTGTTGAAGTAAC-3') and phytoplasma (nested PCR, R16mF2: 5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3' and R16mR1: 5'-CTTAACCCCAATCATCGAC-3', R16F2n: 5'-GAAACGACTGCTAAGACTGG-3' and R16R2: 5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3') are being used in adjustment reactions with plant and insect samples as positive controls.

Keywords: *Zea mays*, mollicutes, mollicutes and viral disease complex, phytopathogens

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida e ao Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes (LEVE/IB-Unicamp) pela infraestrutura laboratorial para a execução das atividades.