



DIAGNOSE MOLECULAR DO COMPLEXO DOS ENFEZAMENTOS DO MILHO NO AGNEST

Nicolas Dallorto Alves **Silva**¹; Júlia **Pagliarani**²; João Pedro Mantoan Nogueira **Bastos**³; Aline Cristina **Paulino**⁴; Amanda Kamia Pedroso de **Oliveira**⁵; Fernanda **Rausch-Fernandes**⁶

Nº 25605

RESUMO – O AgNest Farm Lab é um laboratório vivo (farm lab) resultante do acordo de parceria entre a Embrapa e empresas, sendo um ambiente de inovação, com estrutura para ações e atividades em campo, para startups e corporações, com vistas à criação, desenvolvimento, validação, demonstração e ações voltadas para novas soluções tecnológicas para a agropecuária. O complexo dos enfezamentos do milho é uma doença caracteristicamente sistêmica, em que há alteração da fisiologia das plantas infectadas e conseqüente redução da produção. A incidência de enfezamentos pode resultar em grandes perdas na produtividade do milho, podendo chegar a 100%, em função da época de infecção e da suscetibilidade da cultivar. Na área de plantio de milho do AgNest, foram instaladas bobinas adesivas de coloração amarela para coleta de insetos, que foram triadas em laboratório e espécimes de *Dalbulus maidis* foram coletados para a detecção molecular dos fitopatógenos associados ao complexo dos enfezamentos do milho. Do mesmo modo, plantas de milho sintomáticas 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'-GGCAAAGATGTAACAAAAGT-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 positivos.

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

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

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

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

4 Bolsista de Estímulo à Inovação FAPED: Graduação em Ciências Biológicas, UFSCar, São Carlos-SP; alinepaulino@estudante.ufscar.br

5 Bolsista de Estímulo à Inovação FAPED: Graduação em Ciências Biológicas, UFSCar, São Carlos-SP; amandakamias@gmail.com

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



ABSTRACT – *The AgNest Farm Lab, established through a public–private partnership coordinated by Embrapa, operates as a field-based innovation platform designed to support the development and validation of agricultural technologies by startups and private enterprises. Within the framework of phytosanitary monitoring, the present study targeted the corn stunt disease complex, a systemic and phloem-limited condition that significantly compromises plant physiological functions and may result in yield losses of up to 100%, depending on the infection period and host genotype susceptibility. To assess vector populations, yellow sticky traps were strategically deployed within the experimental maize plots. Captured arthropods were taxonomically screened, and *Dalbulus maidis* specimens - the principal vector of the corn stunt pathogens - were selected for molecular diagnosis. Symptomatic maize plants were likewise sampled for pathogen detection. Total nucleic acids were extracted from both plant and insect samples using a modified cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) protocol. DNA integrity and purity were evaluated prior to downstream applications. Molecular identification of *Spiroplasma kunkelii* is currently being performed using species-specific primers CSSF2 (5'-GGCAAAGATGTAACAAAAGT-3') and CSSR6 (5'-CGCAACTACTGTTGAAGTAAC-3'). For the detection of phytoplasmas, a nested PCR assay targeting the 16S rRNA gene is being employed, using primer sets (R16mF2: 5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3' and R16mR1: 5'-CTTAACCCCAATCATCGAC-3', R16F2n: 5'-GAAACGACTGCTAAGACTGG-3' and R16R2: 5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3'). Reaction conditions are being optimized using DNA from previously confirmed positive plant and insect samples as internal 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.