

LEVANTAMENTO E DIAGNOSE DE PATÓGENOS ASSOCIADOS AO COMPLEXO ENFEZAMENTO

Vitória Gabrielli Ferreira de Oliveira, Vinicius Iura Abreu da Silva, Otally Nelson Schissel, Priscila Stocco Theodoro, Giselle Camargo Mendes, Fabio Nascimento da Silva

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais produzidas no mundo devido a sua versatilidade. Por ser uma cultura amplamente cultivada, o milho enfrenta diversos problemas fitossanitários que são responsáveis por reduzir a produção e o rendimento das lavouras. Nos últimos anos, o complexo do enfezamento do milho, composto pelo fitoplasma ‘Maize bushy stunt phytoplasma’ (MBSP), espiroplasma ‘Corn Stunt Spiroplasma’ (CSS) *Spiroplasma kunkelii*, e os vírus maize rayado fino virus (MRFV) e maize striate mosaic virus (MSMV), vem sendo um desafio aos produtores deste cereal (AVILA, 2022). Este grupo de patógenos é transmitido pela cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). A produção de milho em diferentes épocas do ano, possibilitando o cultivo “safrinha”, se torna o principal fator de manutenção dos patógenos associados ao complexo. Os sintomas na planta são diferentes de acordo com o tipo de infecção, podendo ocasionar nanismo, encurtamento de entrenós, riscas vermelhas e/ou cloróticas, redução de tamanho e proliferação de espigas, assim como pequenas pontuações cloróticas ao longo do limbo foliar, paralelas às nervuras. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento durante a safra 2023/24 dos patógenos associados ao complexo do enfezamento do milho, incluindo o CSS, o MBSP, e os vírus MSMV, maize yellow mosaic (MaYMV) e MRFV, em amostras de folhas de milho apresentando sintomas do complexo no Brasil.

DESENVOLVIMENTO

Foram recebidas 111 amostras de milho, oriundas de diferentes estados do Brasil (Paraná, Rio Grande do Sul, São Paulo, Mato Grosso, Maranhão, Minas Gerais e Pernambuco) provenientes de lavouras assistidas pela empresa BAYER S.A.® e enviadas para o Laboratório de Virologia Vegetal da UDESC. As amostras foram preparadas para envio em papel pardo e ainda com solo nas raízes, para manter a integridade do tecido vegetal pelo maior tempo possível. Assim que recebidas, as amostras foram fotografadas, identificadas e armazenadas sob temperatura de -80°C, para posterior processamento e diagnose. Os ácidos nucleicos totais das amostras foram extraídos de discos foliares de aproximadamente 50mg utilizando o tampão CTAB, do protocolo descrito por Doyle&Doyle (1987), e a síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada usando a enzima RT-MMLV (Promega), conforme recomendações do fabricante. A qualidade e a pureza dos ácidos nucleicos extraídos foi verificada no espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Fisher®). Para a diagnose foram realizadas reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e RT (Reverse Transcription) com a enzima GoTaq® Flexi (Promega) utilizando de primers genéricos e/ou específicos para a detecção de 2 molículos (MBSP e CSS) e 4 vírus (MRFV, MSMV e MaYMV e SCMV) respectivamente. Os produtos das reações de PCR e RT-PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, com intercalante SyBR® Safe (Invitrogen®), sob voltagem de 75V por aproximadamente uma hora, e então,

fotografados no equipamento transiluminador sob luz ultravioleta para a visualização dos fragmentos obtidos. As amostras que apresentaram ampliações no tamanho esperado para cada alvo, ou seja, 500 pb para CSS, 1300 pb para MBSP, 664 pb para MSMV, 1100 pb para MaYMV e 633 pb para MRFV foram consideradas positivas. Um padrão de massa molecular de DNA de 1Kb (DNA Ladder, Invitrogen®) foi utilizado para confirmar a amplificação dos segmentos de interesse.

A incidência de cada patógeno foi determinada pelo número de plantas infectadas em relação ao número total de plantas analisadas. Essa relação foi multiplicada por 100 para se obter o valor de incidência. Com base nos valores de incidência de cada espécie, foram determinadas as espécies virais prevalentes em cada região inserida nas análises.

RESULTADOS

De 111 amostras obtidas e processadas, 49 amostras apresentaram infecção mista, isto é, ocorrência simultânea de dois ou mais patógenos em uma mesma planta, 42 amostras apresentaram infecção simples, e 20 não apresentaram nenhuma infecção. O MSMV foi o patógeno mais frequentemente detectado, presente em 59 amostras (53,15%), seguido pelo espiroplasma CSS, com 49 amostras positivas (44,14%). O MaYMV, que é transmitido por afídeo, também apresentou ocorrência relevante, sendo identificado em 22 amostras (19,82%). Já o SCMV (também transmitido por afídeo), o fitoplasma MBSP e o MRFV apresentaram menores frequências, com detecção em 12 (10,81%), 8 (7,1%) e 8 (7,21%) amostras, respectivamente. A coinfeção mais frequente foi CSS + MSMV, presente em 20 amostras (17,12%), seguida por CSS + MSMV + MaYMV, com 8 amostras (7,21%).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados indicam que o complexo do enfezamento do milho na safra (2023/2024) e locais analisados o período de 2023/24 foi associado com alta ocorrência de infecções mistas, evidenciando a complexidade das interações entre os diferentes patógenos. O MSMV destacou-se como o patógeno prevalente, seguido pelo CSS, sugerindo seu papel central na dinâmica do complexo. A presença significativa de infecções simultâneas, especialmente CSS + MSMV, reforça a necessidade de estratégias de manejo integradas que considerem a ocorrência concomitante de múltiplos agentes, bem como a importância de monitoramento contínuo para subsidiar práticas de controle mais eficazes e sustentáveis nas lavouras de milho.

Palavras-chave: *Dalbulus maidis*; *Zea mays* L.; complexo do enfezamento do milho; diagnóstico molecular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVILA, C. J. et al. **Cigarrinha-do-milho: desafios ao manejo de enfezamentos e viroses na cultura do milho**. Embrapa Agropecuária Oeste, 2022.

DOYLE, J.J.; DOYLE J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin* v.19, 1987, p.11–15.

DADOS CADASTRAIS

BOLISTA: Vitória Gabrielli Ferreira de Oliveira

MODALIDADE DE BOLSA: PIBIC - CNPq

VIGÊNCIA: 09/2024 a 08/2025 – Total: 12 meses

ORIENTADOR(A): Fabio Nascimento da Silva

CENTRO DE ENSINO: CAV

DEPARTAMENTO: Agronomia

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias / Agronomia

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Desenvolvimento de multiplex qPCR para detecção rápida dos patógenos associados ao enfezamento do milho no Brasil e estudo da variabilidade genética de maize striate mosaic virus.

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: PVAV39-2024