

Transmissão de um Isolado do *Maize rayado fino virus* por *Daubulus maidis*

Thiago P. Pires¹; Elizabeth de Oliveira²; Isabel .R.P. Souza²; e Paulo C. Magalhães²

¹Estagiário na Embrapa Milho e Sorgo - thi.biologo@gmail.com

² Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo - beth@cnpms.embrapa.br;
isabel@cnpms.embrapa.br; pcesar@cnpms.embrapa.br

Palavras-chave: *Zea mays* L., MRFV, cigarrinha, período latente

Introdução

Entre as viroses relatadas no milho, no Brasil, a virose da risca, cujo agente causal é o *Maize rayado fino virus* (MRFV) pode reduzir em até 30% a produção de grãos em cultivares suscetíveis (Waquil et al., 1996).

De acordo com Games (1980) o MRFV possui partículas isométricas com aproximadamente 30 nm de diâmetro e é transmitido pela cigarrinha *Dalbulus maidis*, de forma persistente propagativa. Os sintomas característicos de infecção do milho pelo MRFV são riscas formadas por pontos cloróticos que podem coalescer, e que são paralelos às nervuras da folha, podendo ser observados quando estas são colocadas contra a luz.

A cigarrinha *D. maidis*, além de ser vetor do MRFV, transmite também um fitoplasma e o *Spiroplasma kunkelii*, agentes causais das doenças do milho denominadas enfezamento vermelho e enfezamento pálido, respectivamente (Nault, 1980). No Brasil, o milho é o único hospedeiro do MRFV, dos mollicutes fitoplasma e espiroplasma e da cigarrinha *D. maidis* (Oliveira & Oliveira, 2004).

As características da transmissibilidade do MRFV pela cigarrinha *D. maidis*, nas condições brasileiras, são ainda pouco conhecidas.

Este trabalho teve como objetivo verificar a eficiência da transmissão do MRFV pela cigarrinha *D. maidis* e determinar o período latente desse vírus em plantas de milho e nessa cigarrinha.

Material e Métodos

Isolamento do MRFV

Para isolamento do MRFV foram utilizadas folhas destacadas e plantas de milho pipoca provenientes do campo, apresentando sintomas típicos dessa virose. Cinco plântulas com 30 dias de idade, com sintomas típicos da virose, cultivadas em área da Embrapa Milho e Sorgo, foram transplantadas para vasos com 5 Kg de solo. Em uma das plantas as folhas foram destacadas e transferidas para copo plástico contendo 20 ml de água. Foram preparados cinco copos, com uma folha cada (destacadas de uma única planta com sintomas típicos da virose), utilizando-se esparadrapo para fixar as folhas e cobrir a água nos copos.

Estes copos foram colocados sob gaiola plástica, contendo janelas fechadas com tecido voil e, em cada folha foram confinadas 12 espécimes de cigarrinhas (jovens adultos) sadias. Essas cigarrinhas sadias foram obtidas de população criada sob condições controladas, seguindo-se metodologia descrita em Oliveira & Oliveira (2004). As plantas foram cobertas com sacos de tecido voil e, em cada uma, foram confinadas 30 jovens adultos de *D. maidis*,

sadios. As cigarrinhas permaneceram alimentando-se nas folhas ou nas plantas, durante uma semana, para aquisição do MRFV.

Após esse período de aquisição, as cigarrinhas foram transferidas para gaiolas de criação, devidamente identificadas, mantidas em viveiro telado e alimentadas com plântulas de milho sadias. Posteriormente, estas cigarrinhas, foram individualmente confinadas em plântulas de milho sadias, durante uma semana, para verificar a transmissão desse vírus. Semanalmente, foram utilizadas doze cigarrinhas provenientes da aquisição em folhas e doze cigarrinhas provenientes da aquisição nas plantas. Esse procedimento foi repetido por três semanas consecutivas. Para a transmissão do vírus, foram utilizadas plântulas de uma cultivar de milho pipoca, conhecidamente susceptível ao MRFV.

Essas plântulas foram mantidas em viveiro telado, para verificar a manifestação dos sintomas de infecção pelo MRFV e amostras de folhas destas plantas foram submetidas ao teste de PCR multiplex para detecção de fitoplasma e de espiroplasma (Oliveira et al. 2002), que também são transmitidos por *D. maidis*.

As plantas com sintomas de MRFV, cuja ausência de fitoplasma e de espiroplasma foi confirmada, foram preservadas como plantas-fonte do vírus e utilizadas para novas aquisições. O processo de aquisição e inoculação repetido permite a preservação do MRFV em plantas-fonte.

Experimento de transmissão.

Para avaliação da eficiência de transmissão do MRFV por *D. maidis*, cigarrinhas submetidas à aquisição desse vírus foram semanalmente confinadas em plântulas de milho para inoculação do mesmo.

Trezentos espécimens de jovens adultos de *D. maidis* foram confinados em uma planta de milho com sintomas de infecção por MRFV, mantida em viveiro telado, como planta-fonte desse vírus, utilizando-se para confinamento um saco de tecido voil. As cigarrinhas sadias foram obtidas conforme metodologia descrita em Oliveira & Oliveira (2004). Esse período de aquisição foi de uma semana e, posteriormente, as cigarrinhas foram transferidas para gaiola de criação e alimentadas com plântulas de milho sadias.

Semanalmente, 20 cigarrinhas submetidas à aquisição do MRFV foram individualmente confinadas em plântulas de milho pipoca, para inoculação do vírus. O processo foi repetido durante três semanas e, até 30 dias após cada inoculação, as plantas foram semanalmente avaliadas com relação à manifestação de sintomas de infecção pelo vírus. Foi determinado o percentual de plantas apresentando sintomas da virose em cada conjunto de 20 plantas inoculadas semanalmente.

A eficiência da transmissão do MRFV por *D. maidis* foi determinada nas amostras de 20 espécimens, em função do percentual de plantas que apresentaram sintomas de infecção pelo vírus, em cada inoculação.

O período latente do MRFV, nas plantas, foi determinado em função do número de semanas decorrido até a manifestação dos sintomas de infecção pelo vírus, independente da semana em que foi feita a inoculação.

Resultados

Isolamento do MRFV

Dentre o total de 96 plântulas submetidas às cigarrinhas para transmissão do MRFV, 12 apresentaram sintomas de infecção por esse vírus. Dentre essas 12 plantas com sintomas, em três a transmissão do MRFV ocorreu a partir de cigarrinhas que adquiriram o vírus nas folhas destacadas, provenientes do campo e nas outras 9 a partir de cigarrinhas que se alimentaram nas plantas sintomáticas transplantadas do campo. Oito dessas plantas apresentaram sintomas de infecção a partir da retirada das cigarrinhas utilizadas para inoculação do vírus, ou seja, em uma semana a partir do primeiro dia de confinamento das cigarrinhas. Uma planta submetida à inoculação no dia 22/12/05 apresentou sintomas de infecção por MRFV no dia 26/12/05. Nesse caso, o período de latência do vírus nas plantas foi relativamente curto, sendo inferior ou igual a uma semana.

Por outro lado, três plantas apresentaram sintomas duas semanas após a inoculação.

O teste de PCR para detecção de espiroplasma e de fitoplasma mostrou ausência desses patógenos nas plantas com sintomas de MRFV, quando as cigarrinhas utilizadas para inoculação adquiriram o vírus em folhas de milho destacadas da planta. A presença de fitoplasma foi detectada em quatro plantas que foram infectadas utilizando-se cigarrinhas que adquiriram o vírus em plantas transplantadas do campo.

Experimento de transmissão.

Os resultados da eficiência de transmissão do MRFV por *D. maidis*, são apresentados na **Figura 1**. Dentre as vinte plantas submetidas à inoculação imediatamente após completar uma semana em aquisição, 5% apresentaram sintomas de infecção pelo MRFV. Dentre as plantas submetidas à inoculação utilizando-se cigarrinhas que, após o período de aquisição permaneceram por mais uma semana em gaiola de criação, 40% apresentaram sintomas. Quando as plantas foram submetidas à inoculação utilizando-se cigarrinhas que completaram duas semanas, após a aquisição, 15%, apresentaram sintomas. e quando foram utilizadas cigarrinhas que completaram três semanas, após a aquisição, 10% das plantas apresentaram sintomas.

O período de latência do MRFV nas plantas de milho-pipoca infectadas variou de uma a três semanas, sendo que 50% das plantas apresentaram sintomas duas semanas após a inoculação (**Figura 2**).

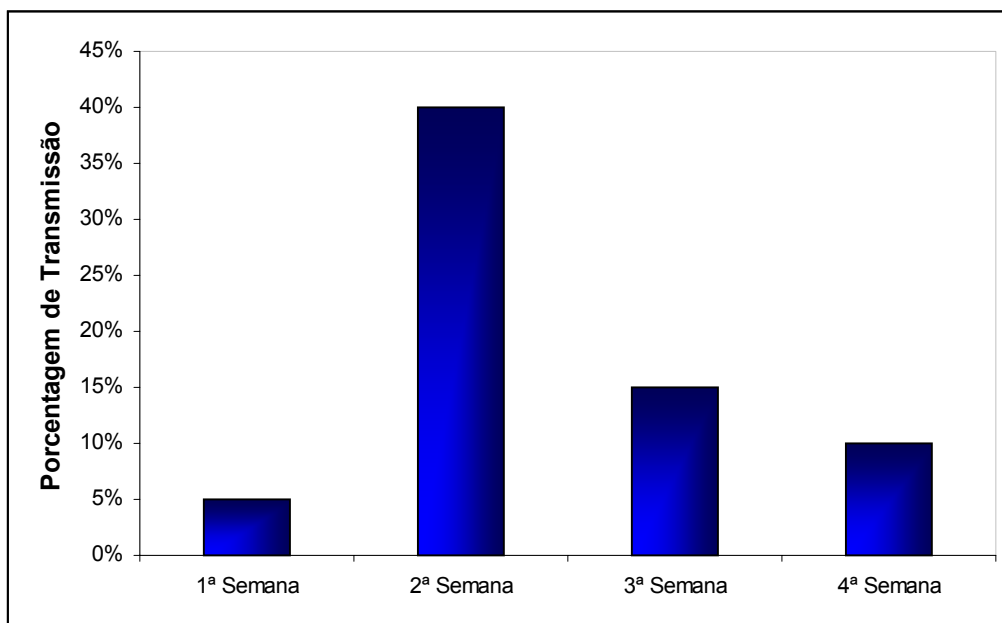


Figura 1 – Porcentagem de transmissão semanal do MRFV por *D. maidis*, a partir do primeiro dia de aquisição.

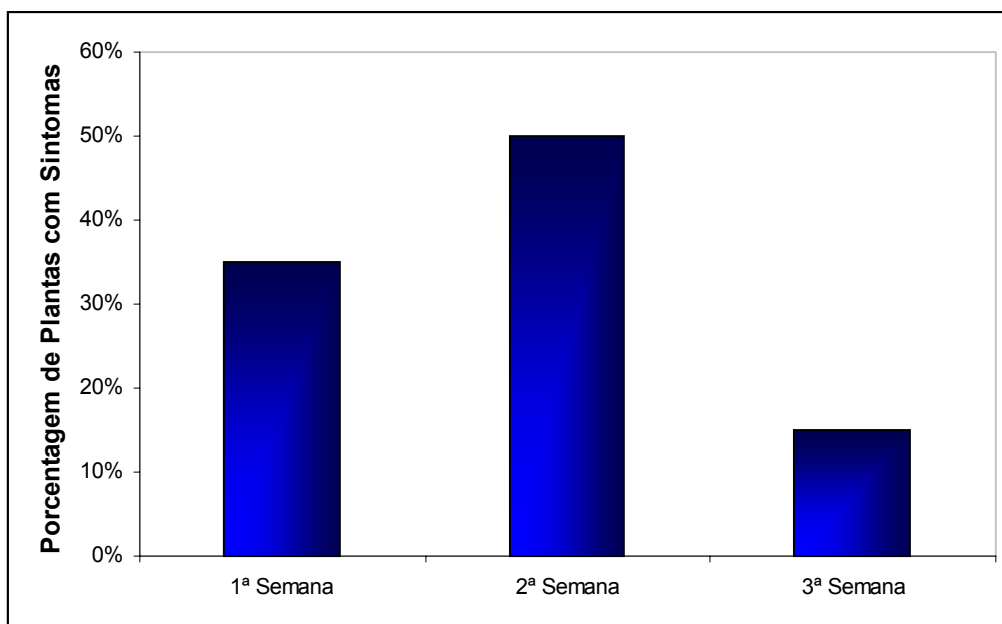


Figura 2 – Porcentagem de plantas com sintomas do MRFV a partir do primeiro dia de inoculação.

Discussão

De acordo com Gamez (1980) o período latente do MRFV, em *Dalbulus maidis* pode variar de 8 a 37 dias, porém, não há informações sobre a eficiência de transmissão desse vírus, por esse vetor, em função do período latente. Nesse estudo verificou-se maior eficiência (40%) na transmissão do isolado de MRFV, quando o período latente foi de cerca de 15 dias, e apresentando decréscimo acentuado quando esse período foi da ordem de 21 ou 28 dias. Esses resultados sugerem grande variação na capacidade de transmissão do MRFV por *D. maidis*, ou que, a capacidade de transmissão do vírus, por esse vetor, pode ser decrescente em função do tempo, como relatado por esse autor.

Os resultados obtidos no isolamento do MRFV e no experimento de transmissão evidenciaram que o período latente desse isolado de vírus, nas plantas, pode variar de 3 a 21 dias, com maior frequência (50%), em 15 dias. De acordo com Gamez (1980), os sintomas dessa virose se manifestam nas plântulas de milho, entre 8 a 14 dias, após a inoculação. Contudo, a grande variação desse período latente, verificada nesse estudo, pode ser atribuída a outros fatores, como o nível de susceptibilidade da cultivar de milho, ao isolado do vírus, ou a condições de temperatura do ambiente.

O conhecimento desses aspectos poderá contribuir para a determinação de condições adequadas para a manutenção deste patógeno sob condições controladas e para estudo da epidemiologia desta doença em campo.

Literatura Citada

GAMEZ, R. **Maize rayado fino virus**. Surrey: Commonwealth Mycological Institute/Association of Applied Biologists, Sept. 1980. (C.M.I.A.A.B. Descriptions of Plant Viruses, n.220).

NAULT, L.R., 1980 Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. *Phytopathology*, **70**: 659-662.

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.; OLIVEIRA, C.M. (Ed). **Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores, mancha por *Phaeosphaeria***, Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 276p.

WAQUIL, J. M.; OLIVEIRA, E.; PINTO, N. F. A.; FERNANDES, F. T.; CORREA, L. A. Efeito na produção e incidência de viroses em híbridos comerciais de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 21; n. 4, p. 460-463, 1996.