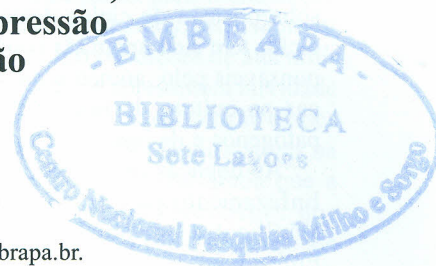


# ARTIGOS

## Incidência de Enfezamentos e da Risca (*Maize rayado fino virus* – mrfv) em milho em diferentes épocas de plantio e relação entre a expressão de sintomas foliares de Enfezamentos e produção

Elizabeth de Oliveira<sup>1</sup>, Antônio Carlos de Oliveira<sup>1</sup>



<sup>1</sup>Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, e-mail: beth@cnpms.embrapa.br.

Aceito para publicação em: 23/07/2003.

### RESUMO

Oliveira, E. de; Oliveira, A.C. de. Incidência de Enfezamentos e da Risca (*Maize rayado fino virus* – mrfv) em milho em diferentes épocas de plantio e relação entre a expressão de sintomas foliares de Enfezamentos e produção. *Summa Phytopathologica*, v.29, p.221-224, 2003.

Avaliou-se a influência da época de plantio na incidência de Enfezamentos e da Risca em milho e a relação entre a expressão de sintomas foliares de Enfezamentos e produção. As avaliações foram semanalmente realizadas em dois híbridos de milho mensalmente plantados, no período de março de 1997 a fevereiro de 2000, em Sete Lagoas (MG). Duzentas plantas de cada híbrido foram individualmente marcadas e registrado para cada uma o número de semanas decorridos até a manifestação de sintomas foliares de Enfezamentos, através da atribuição de notas de 1 a 5. A produção dessas plantas foi determinada pelo peso de espigas produzidas. As temperaturas máxima e mínima, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar foram diariamente registradas e calculadas as médias mensais. Os Enfezamentos e a Risca foram detectados em todas as épocas de plantio, evidenciando que a presença de milho no campo duran-

te o ano todo, permite a sobrevivência dos patógenos e de seu inseto vetor. Constatou-se variação nos níveis de incidência em função da época de plantio, com aparente tendência de maior incidência nos plantios dos meses de dezembro a abril, fato atribuído à maior densidade populacional de *Dalbulus maidis*, cujos picos populacionais ocorrem nos meses de março e abril, em Sete Lagoas. Análises de correlação entre níveis de incidência e características climáticas indicaram que a incidência dos Enfezamentos e da Risca é favorecida pela umidade relativa do ar. Os Enfezamentos causaram redução média de 73,5% no peso de espigas, em relação às plantas sadias. Os resultados de análises de correlação indicaram que, quanto mais tarde a planta manifesta sintomas, menor é sua produção. Esse efeito indica uma provável relação direta entre o enchimento de grãos e a expressão de sintomas foliares.

Palavras-chave adicionais: mollicutes, espiroplasma, fitoplasma.

### ABSTRACT

Oliveira, E. de; Oliveira, A.C. de. Incidence of Corn stunt diseases and *Maize rayado fino virus* - mrfv on maize under different sowing dates and relationship between Corn stunt leaf symptom expression and production. *Summa Phytopathologica*, v.29, p.221-224, 2003.

The objective of this study was to evaluate the influence of different sowing dates on Corn stunt diseases and *Maize rayado fino virus* incidences and the relationship between Corn Stunt leaf symptom expression and production in two maize cultivars. Two maize hybrids were monthly sowed and weekly evaluated for symptoms and production from March 1997 to February 2000. Two hundred plants from each hybrid were labeled and the number of weeks from sowing to the appearance of Corn stunt leaf symptoms was determined through a 1 to 5 grading system. The ears weight was also measured for each treatment. Maximum and minimum temperatures, relative humidity, and rainfall were daily measured. The average values were obtained at the end of the month. The Corn stunt diseases and *Maize rayado fino virus* were present in all sowing dates

indicating that intensive maize cropping all over the year provides the ideal conditions for the survival of pathogens and insect vectors. Variations in disease incidence levels were affected by sowing dates, with a trend for higher incidences in sowing dates from December to April. This may be related to the peak of *Dalbulus maidis* population in Sete Lagoas area, which occurs from March to April. A significant positive correlation between disease incidence and relative humidity was observed for both Corn Stunt diseases and *Maize rayado fino virus*. Corn stunt diseases reduced by 73.5% the ear weight. Correlation analyses indicated that the longer it takes for symptoms to be expressed, the higher is the reduction in ear weight. This suggests a possible association between leaf symptom expression and grain filling period.

Additional keywords: mollicutes, spiroplasma, phytoplasma.



O crescimento da área cultivada com milho, no Brasil, em plantio de segunda época (Safrinha), cuja sementeira é geralmente feita nos meses de fevereiro e março, associado ao deslocamento da cultura para as regiões quentes do Centro-Oeste, que permitem cultivos irrigados durante o ano todo, têm contribuído para a sobreposição de ciclos desta cultura. Essa sobreposição de ciclos tem sido apontada como um dos principais fatores responsáveis pelo aumento na incidência e severidade de doenças na cultura do milho, favorecidas pela perpetuação de patógenos e de insetos vetores de mollicutes e de vírus.

As doenças do milho causadas por mollicutes incluem o Enfezamento pálido cujo agente causal é o espiroplasma (*Mollicutes-Spiroplasmataceae-Spiroplasma kunkelii*) e o Enfezamento vermelho, associado a um fitoplasma. Esses patógenos, procariontes sem parede celular, infectam o floema das plantas de milho e são disseminados pela cigarrinha *Dalbulus maidis*, que também transmite o vírus da Risca (*Maize rayado fino virus* – MRFV) (1, 4, 10). Os Enfezamentos alteram a fisiologia das plantas de milho causando redução no crescimento e no peso de grãos, resultando em sérios prejuízos na produção (8, 9, 11). Normalmente, os Enfezamentos causados por espiroplasma e por fitoplasma ocorrem simultaneamente em lavouras de milho, sendo difícil a distinção entre os dois tipos, devido à semelhança dos sintomas e à possível infecção simultânea de uma mesma planta pelos dois patógenos (3). Observa-se que, os sintomas de Enfezamentos podem ser variáveis, principalmente em função da cultivar e em geral, manifestam-se acentuadamente por ocasião do enchimento de grãos, podendo ser eventualmente detectados em plantas jovens (9, 10). Por outro lado, a presença do MRFV em plantas de milho pode ser facilmente identificada através da sintomatologia (1, 4, 14).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da época de plantio na incidência de Enfezamentos e da Risca em milho e a relação entre a expressão de sintomas foliares de Enfezamentos e a produção.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram mensalmente semeados dois híbridos comerciais de milho e semanalmente avaliada a incidência de plantas com sintomas de Enfezamentos e de plantas com sintomas da Risca. Esses híbridos foram utilizados considerando-se observações anteriores feitas em campo com alta incidência de Enfezamentos, em que os mesmos apresentaram níveis semelhantes para a incidência de plantas com sintomas dessas doenças. Aos 10 dias após a emergência, duzentas plantas de cada híbrido foram numeradas e marcadas para realização das avaliações. Os plantios foram realizados no dia 20 de cada mês, no período de março de 1997 a fevereiro de 2000, em área experimental da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas (MG). A incidência de plantas com sintomas da Risca foi realizada até a época de florescimento e a incidência de plantas com sintomas de Enfezamentos foi avaliada até o estágio fenológico E8 (grão pastoso) (2). Nestas avaliações, foram considerados principalmente sintomas foliares expressos pelo avermelhamento foliar, associado ou não à proliferação de espigas e ao secamento precoce das plantas, como relatado por (10), para diferentes cultivares de milho submetidas à inoculação com mollicutes. Para a Risca foram considerados os sintomas típicos expressos pela presença de pontos cloróticos que coalescem formando

riscas ao longo das nervuras secundárias, conforme descrito por (4). Por ocasião das avaliações feitas para a primeira época de plantio, em março de 1997, amostras de plantas apresentando sintomas de Enfezamentos e da Risca foram submetidas a Polimerase chain reaction-PCR para confirmação de infecção por fitoplasma (6, 7) e de Western blotting (5) para confirmação de infecção por espiroplasma e de MRFV, utilizando-se anticorpos específicos para esses patógenos. O nível de incidência de Enfezamentos e da Risca, em cada época de plantio, foi calculado em função do percentual de plantas com sintomas, nas duzentas plantas avaliadas. Considerando-se a numeração das plantas, e as planilhas de avaliações semanais foram também atribuídas notas para a ocorrência de Enfezamentos, de acordo com a idade da planta em que foram detectados sintomas foliares dessas doenças, sendo: 1 = expressão de sintomas foliares entre 0 e 4 semanas após a sementeira; 2 = expressão de sintomas foliares entre 4 e 8 semanas após a sementeira; 3 = expressão de sintomas foliares entre 8 e 12 semanas após a sementeira; 4 = expressão de sintomas foliares entre 12 e 16 semanas após a sementeira; 5 = expressão de sintomas foliares após 16 semanas da sementeira. Os dados de temperatura máxima (Tmax); temperatura mínima (Tmin); precipitação pluviométrica (Pplv) e umidade relativa do ar (UR) foram diariamente registrados e calculadas as médias mensais. A produção foi individualmente determinada para cada uma das plantas numeradas através do peso de espigas. Utilizando-se as planilhas de avaliação foram identificadas plantas apresentando apenas sintomas de Enfezamentos, sem a presença da Risca, e também plantas sadias, em cada época de plantio. Considerando-se apenas esses dados, foram calculados os percentuais de redução na produção de plantas com Enfezamentos, em relação à produção de plantas sadias, dentro de cada época de plantio. Os dados obtidos para redução em produção e as notas atribuídas para a idade de expressão dos sintomas foliares foram submetidos a análises estatísticas de correlação. Esses dados foram utilizados também para calcular a redução média em produção causada pelos Enfezamentos. Os dados referentes à incidência de Enfezamentos e da Risca, em cada época de plantio, e as médias mensais de Tmax, Tmin, Ppv e UR foram submetidas a análises estatísticas de correlação.

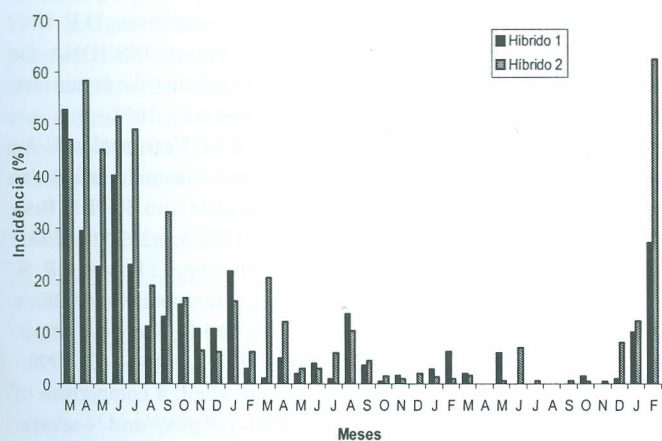
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Risca e os Enfezamentos foram detectados, em níveis variáveis de incidência, em todas as épocas de plantio (Figuras 1 e 2), evidenciando que a sobreposição de ciclos dessa cultura no campo, durante o ano todo, garante a perpetuação dos patógenos e de seu inseto vetor, a cigarrinha *Dalbulus maidis*. Houve variação na incidência dos Enfezamentos e da Risca, em função da época de plantio, tendendo a ser maior nos plantios tardios, realizados nos meses de dezembro a abril. Essa tendência pode ser possivelmente explicada pela flutuação populacional de *D. maidis*, que em Sete Lagoas atinge picos populacionais nos meses de março e abril, ultrapassando média de 10 espécimens por planta. Essa média decresce nos meses seguintes, atingindo 01 espécimen por planta (14). Por outro lado, torna-se difícil explicar a menor incidência da Risca constatada no ano de 1999, em relação aos outros anos (Figura 1), com base apenas na presença da planta hospedeira e do inseto vetor. Nesse caso, considera-se provável que as condições



ambientais tenham sido determinantes para a menor incidência dessa virose. Efeito semelhante, porém menos marcante, foi também observado para a incidência de Enfezamentos no ano de 1999 (Figura 2).

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das análises de correlação entre características climáticas e níveis de incidência de Enfezamentos e da Risca nos dois híbridos de milho, nas diferentes épocas de plantio. Foram obtidos maiores coeficientes de correlação positiva e significância, apenas para a característica climática Umidade Relativa do ar. Essas correlações positivas evidenciam que maiores níveis de umidade relativa do ar contribuem para a maior incidência de Enfezamentos e da Risca. Ainda, a análise de correlação múltipla mostrou que a umidade relativa do ar e a precipitação pluviométrica explicam 51% dos casos para o híbrido 2. Esses resultados evidenciam a importância da água para o desenvolvimento dessas doenças, embora outros fatores como o número e distribuição de cigarrinhas infectivas e a idade em que as plantas são infectadas também possam provavelmente influenciar a incidência de Enfezamentos e da Risca. É possível que a umidade relativa do ar tenha um efeito indireto na incidência dessas doenças favorecendo a multiplicação de cigarrinhas na área. É possível também que essa condição ambiente atue diretamente favorecendo o desenvolvimento desses agentes patogênicos no interior



**Figura 1.** Incidência da Risca em dois híbridos de milho mensalmente semeados no período de março de 1997 a fevereiro de 2000, em Sete Lagoas (MG).

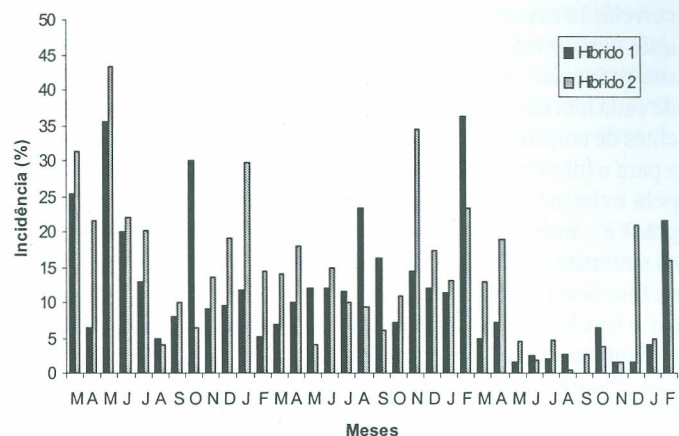
**Tabela 1.** Coeficientes de correlação entre médias de características climáticas e médias de incidência de Enfezamentos e da Risca em dois híbridos de milho mensalmente semeados em Sete Lagoas (MG), no período de Março de 1997 a Fevereiro de 2000.

	Pplv	Tmáx	Tmin	UR
Enf. / Hb1	-0,148	-0,026	0,093	0,221
Enf. / Hb2	0,244	-0,151	0,211	0,674**
Risca / Hb1	0,083	-0,222	-0,101	0,307*
Risca / Hb2	0,025	-0,225	-0,178	0,253

(\*\*) Significativo  $P \leq 1\%$ ; (\*) Significativo  $P \leq 5\%$ ; Pplv = Precipitação pluviométrica (mm); Tmáx = Temperatura máxima ( $^{\circ}\text{C}$ ); Tmin = Temperatura mínima; UR = Umidade Relativa (%); Hb1 = híbrido 1; Hb2 = híbrido 2.

da planta. Foi recentemente demonstrado que plantas de milho infectadas por mollicutes apresentam maior quantidade de água por unidade de matéria seca, independente da disponibilidade de água no solo. Esse efeito foi hipoteticamente atribuído a mecanismos adaptativos desses patógenos para manutenção de níveis de concentração osmótica adequados a sua sobrevivência (8). Por isso é possível que, sob condições de alta umidade relativa do ar, as plantas infectadas apresentem atividade fisiológica favorável ao desenvolvimento e distribuição desses patógenos através do floema, sem alterações significativas na concentração osmótica das células. É possível ainda que a umidade relativa do ar favoreça o estabelecimento dos patógenos, no momento da transmissão pelo vetor. Porém, pode ser que todos esses eventos ocorram simultaneamente. De qualquer forma, esse resultado explica a alta incidência de Enfezamentos em áreas irrigadas (11). Ainda, evidencia a importância de se evitar o plantio de cultivares susceptíveis sob condições de alta umidade relativa do ar, em regiões e em épocas de alta densidade populacional da cigarrinha *Dalbulus maidis*, visando ao escape dos Enfezamentos e da Risca.

Foram identificadas 33 plantas apresentando apenas sintomas de Enfezamentos, sem presença da Risca, sendo 10 pertencentes ao híbrido 1 e 23 pertencentes ao híbrido 2, cuja produção pôde ser comparada à de plantas sadias, identificadas nas



**Figura 2.** Incidência de Enfezamentos em dois híbridos de milho mensalmente semeados no período de março de 1997 a fevereiro de 2000, em Sete Lagoas (MG).

**Tabela 2.** Médias da percentagem de redução na produção obtidos para plantas de dois híbridos comerciais de milho em função da idade de manifestação de sintomas foliares de Enfezamentos causados por mollicutes, indicada por notas.

Notas	Semanas	Redução na produção (%)
2	4 a 8	57,4
3	8 a 12	78,8
4	12 a 16	73,9
5	> 16	80,7



mesmas épocas de plantio. A incidência casual da Risca, muitas vezes coincidindo com a incidência de Enfezamentos, nas mesmas plantas, limitou a identificação de plantas apenas com Enfezamentos, principalmente para o híbrido 2. Os dados de produção destas plantas foram utilizados para comparações entre as médias de produção e análise de correlação entre nota atribuída em função da idade de manifestação dos sintomas e produção.

Os Enfezamentos causaram redução média de 73,5% no peso de espigas, em relação às plantas sadias (Tabela 2). A expressiva redução na produtividade de milho observada no presente estudo reforça a necessidade de controle dessas doenças, que em campos de produção pode atingir até 100% das plantas, conforme já constatado por (11).

Em geral, os sintomas da Risca foram detectados a partir de 4 semanas após a sementeira. Considerando-se que o período de incubação desse vírus é de 14 dias (4), pode-se considerar que as primeiras cigarrinhas infectivas atingiram as plântulas cerca de uma semana após a emergência, que ocorre em 5 a 7 dias. O aumento nos níveis de incidência da Risca, observados a partir de 4 semanas após a sementeira até o florescimento, sugere a multiplicação do inóculo e das cigarrinhas infectivas dentro da área de plantio.

A análise de correlação entre as notas atribuídas em função da idade da planta em que apareceram os sintomas foliares de Enfezamentos e dados de produção apresentou coeficiente de correlação negativa e significativa (-0,676;  $P \leq 5\%$ ), indicando que, quanto mais tarde a planta manifesta sintomas, menor é sua produção. As análises de correlação feitas para os dados de cada híbrido individualmente também apresentaram coeficientes de correlação negativos para o híbrido 1 (-0,218;  $P \leq 31\%$ ) e para o híbrido 2 (-0,499;  $P \leq 1\%$ ). Este fato pode ser explicado pela existência de uma relação direta entre o enchimento de grãos e a manifestação de sintomas dessas doenças. Em geral, os sintomas dos Enfezamentos se manifestam mais tipicamente na fase de enchimento de grãos (10, 11). Esse efeito pode explicar o resultado obtido nesse trabalho em que quanto mais tarde se expressaram os sintomas foliares, pior foi o efeito na produção. Plantas apresentando drástica redução no tamanho das espigas, ou espigas totalmente improdutivas, não apresentaram movimentação de fotossintatos e nutrientes para enchimento de grãos havendo portanto um retardamento na expressão dos sintomas foliares. Esse resultado difere de outros relatados na literatura, referentes à avaliação de danos causados pelos Enfezamentos, em que se constata que quanto mais cedo ocorre a manifestação de sintomas de Enfezamentos, maior é a redução na produção (9, 12). Porém, é importante ressaltar que, essas avaliações foram realizadas envolvendo cinco ou mais híbridos e portanto refletem o grau de susceptibilidade de híbridos que manifestam sintomas mais cedo que outros mais resistentes, diferindo substancialmente do resultado obtido no presente trabalho, que reflete o efeito da movimentação de fotossintatos e nutrientes para enchimento de grãos, na expressão dos sintomas foliares.

Os resultados obtidos nesse trabalho, referentes à expressão de sintomas foliares são importantes, e deverão ser consi-

derados no que se refere à identificação dessas doenças com base em sintomas, e para o estabelecimento de estádios de desenvolvimento das plantas de milho mais adequados para avaliações de incidência dessas doenças em trabalhos de melhoramento genético para a resistência.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Costa, A.S.; Kitajima, E.W.; Arruda, S.C. Moléstias de vírus e de micoplasma no milho em São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Brasília, v.4, n.4, p.39-41, 1971.
- Fancelli, A.I.; Dourado Neto, D. Cultura do milho: aspectos fisiológicos e arranjo de água. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n.73, p.1-4, 1996.
- Fernandes, F.T.; Oliveira, E. **Principais doenças na cultura de milho**. Sete Lagoas: Embrapa – CNPMS, 1987. 80 p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 26)
- Gámez, R. **Maize rayado fino virus**. [s.l.]: CAB/AAB, 1980. (CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, 220).
- Hampton, R., Balle, E.; Boer, S. de (Ed.) **Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens: a laboratory manual**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1990. 384p.
- Harrison, N.A.; Richardson, P.A.; Tsai, J.H. PCR assay for detection of the phytoplasma associated with maize bushy stunt disease. **Plant Disease**, St. Paul, v.80, n.3, p.263-269, 1996.
- 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.
- Magalhães, P.C.; Oliveira, E.; Gomide, R.L.; Vasconcelos, C.A.; Souza, I.R.P. Aspectos fisiológicos de plantas de milho infectadas por moléculas sob diferentes níveis de água no solo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.13, n.3, p.293-301, 2001.
- Massola, Junior, N.S.; Bedendo, I. P.; Amorim, L.; Lopes, J. R. S. Quantificação de danos causados pelo enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, p.136-142, 1999.
- Nault, L.R. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.7, p.659-662, 1980.
- Oliveira, E.; Waquil, J.M.; Fernandes, F.T.; Paiva, E. Resende, R.O.; Kitajima, W.E. Enfezamento pálido e enfezamento vermelho na cultura do milho no Brasil Central. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.45-47, 1998.
- Scott, G.E.; Rosenkranz, E.E.; Nelson, L.R. Yield loss of corn due to corn stunt disease complex. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, n.1, p.92-94, 1977.
- 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, v.21; n.4, p.460-463, 1996.
- Waquil, J.M.; Oliveira, E.; Pinto, N.F.A. Incidência de cigarrinha, enfezamento e viroses em milho. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO "SAFRINHA", 1997, Assis. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p.101-105.