



ETIOLOGIA

1371

Identificação molecular de microrganismos presentes em lesões necróticas de mancha branca do milho

(Molecular identification of microorganisms present in necrotic lesions of maize white spot (MWS) disease)

Pedro, F. R.¹; Pedro, E. S.²; Gonçalves, R. M.²; Figueiredo, J. E. F.³; Meirelles, W. F.³; Paccola-Meirelles, L. D.²

¹UNIFEMM; ²UEL; ³Embrapa Milho e Sorgo. E-mail: paccola@uel.br

A doença mancha branca do milho (MBM) provoca necrose dos tecidos foliares causando perdas de até 60% nas lavouras ou a seca prematura das folhas em cultivares suscetíveis. A etiologia da doença não está definida, sendo atribuída à bactéria *Pantoea ananatis* ou aos fungos *Phoma sorghini*, *Phylostictia*, *Phaeosphaera maydis*, entre outros. Este trabalho objetivou o diagnóstico molecular de microrganismos presentes em diferentes estádios das lesões MBM em cultivares de milho plantadas no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais. As lesões foram classificadas em quatro diferentes estádios sendo o estádio inicial denominado por anasarca, o estádio seguinte foi aquele em que as lesões apresentavam contornos bem definidos nas cores amarelo-marrom e dois estádios posteriores necróticos. As lesões coletadas foram levadas para o laboratório para desinfestação superficial com lavagens sucessivas com hipoclorito de cálcio a 2% e álcool 70%. Aproximadamente 0,5 grama de tecido vegetal usado para extração de DNA e 200 nanogramas de DNA foram empregadas para PCR com iniciadores desenhados especificamente para *P. ananatis* e iniciadores universais (ITS1 e ITS2) para amplificação da região intergênica do rDNA ribossomal. Após as amplificações 20 microlitros de cada amostra foi separada em gel de agarose a 1%. Os iniciadores específicos para diagnóstico de *P. ananatis* produziram amplicom de aproximadamente 390 pares de bases (pb) em todos os quatro estádios das lesões MBM e o sequenciamento do DNA amplificado confirmou a identidade de *P. ananatis*. Os iniciadores universais para fungos amplificaram um fragmento de DNA de aproximadamente 500pb apenas nas lesões mais tardias (necróticas) e o sequenciamento de fungos isolados de lesões MBM revelaram a presença de diferentes espécies saprófitas. Esse resultado possibilita concluir que a bactéria *P. ananatis* é o agente causador da MBM e que os fungos que surgem posteriormente nas lesões MBM representam diferentes espécies de organismos oportunistas sem relação direta com a doença.

Hospedeiro: *Zea mays*, milho

Patógeno: *Pantoea ananatis*

Doença: Mancha Branca do Milho (MBM)

Área: etiologia