

# Monitoramento de Enfezamentos Causados por Molicutes e de Cigarrinhas na Cultura do Milho nos Estados de Sergipe e Bahia na Safra 2013

*Jessica Marcy Silva Melo Santos<sup>1</sup>, Viviane Talamini<sup>2</sup>, Elizabeth de Oliveira Sabato<sup>3</sup>, Frederico Alberto de Oliveira<sup>4</sup>, Leandro Eugenio Cardamone Diniz<sup>5</sup>, Carlos Carneiro dos Santos<sup>6</sup>*

## Resumo

Enfezamento-pálido e enfezamento-vermelho são doenças causadas em milho por molicutes denominados espiroplasma e fitoplasma respectivamente. Molicutes são organismos sem parede celular, com apenas uma membrana envolvendo o citoplasma e são encontrados restritos ao floema de plantas doentes, causando sintomas como clorose nas margens das folhas do cartucho, avermelhamento das folhas mais velhas, redução no tamanho da planta e proliferação de espigas do milho. O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência de enfezamentos e da cigarrinha *Dalbulus maidis*, vetora dos molicutes, na cultura do milho em Sergipe e Bahia. Para tanto, foram realizadas análises das plantas por inspeção visual e coleta de insetos com rede entomológica em lavouras localizadas em municípios produtores de milho de Sergipe e da Bahia. Plantas com sintomas típicos dos enfezamentos foram analisadas por meio do PCR multiplex para detecção simultânea de fitoplasma e espiroplasma. Foi possível detectar a presença do fitoplasma e do espiroplasma

<sup>1</sup> Estudante de Engenharia Agrônoma, bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marcymeloo@hotmail.com.

<sup>2</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, viviane.talamini@embrapa.br.

<sup>3</sup> Bióloga, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, elizabeth.o.sabato@embrapa.br.

<sup>4</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor, professor da Faculdade AGES, Paripiranga, BA, fredericoalberto@yahoo.com.

<sup>5</sup> Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, Sergipe, leandro.diniz@embrapa.br.

<sup>6</sup> Estudante do curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, carloscsantos@bol.com.br.

em amostras de Itabaiana – SE, Paripiranga – BA, Frei Paulo – SE, Coronel João Sá - BA, Carira – SE e Adustina – BA. A espécie de cigarrinha *D. maidis* foi coletada em todos os municípios amostrados durante a safra de 2013.

**Palavras-chave:** cigarrinha, *Dalbulus maidis*, enfezamento-vermelho, enfezamento-pálido, mollicutes.

## Introdução

A área cultivada com milho na região Nordeste na safra 2012/2013 atingiu 2.417.600 hectares, superando a área da região Sudeste (2.211.300ha). Embora a região Nordeste alcance área de plantio maior, a produtividade do milho nesta região ainda é baixa (Agrianual 2014). A determinação das causas de baixa produtividade do milho no Nordeste é essencial para permitir que sejam adotadas práticas de manejo que possam contribuir para aumentar a produtividade desse cereal na região. Dentre os diversos fatores que podem afetar a produtividade do milho incluem-se as doenças, como o enfezamento-pálido causado pelo Corn Stunt Spiroplasma (espiroplasma) e enfezamento-vermelho causado pelo Maize Bushy Stunt Phytoplasma, (fitoplasma) classificados como mollicutes, cujos agentes causais são disseminados por insetos vetores. Os sintomas típicos do enfezamento pálido incluem a presença, nas folhas, de estrias esbranquiçadas, que se estendem da base em direção ao ápice; redução na altura das plantas, crescimento das espigas e na formação de grãos e dependendo da cultivar de milho, algumas folhas apresentam coloração avermelhada. Os sintomas típicos do enfezamento vermelho incluem, além da redução em crescimento e produção, a proliferação de espigas associada ao intenso avermelhamento das folhas (OLIVEIRA et al., 2002).

Os mollicutes são transmitidos de forma persistente propagativa pela cigarrinha *Dalbulus maidis* e esse inseto-vetor têm ampla ocorrência nas lavouras de milho das regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste. Em geral, a maior incidência dos enfezamentos tem sido detectada em plantios tardios e em plantios de safrinha, sendo explicada pelas sobreposições dos ciclos da cultura e por condições climáticas favoráveis à proliferação do vetor e ao desenvolvimento da doença (OLIVEIRA et al., 2003).

Contudo, há carência de informações sobre a ocorrência desses insetos vetores, bem como dos enfezamentos em milho na região Nordeste, onde essa

cultura tem se tornado cada vez mais expressiva. Neste trabalho pretende-se avaliar a ocorrência de enfezamentos e da cigarrinha *D. maidis* na cultura do milho nos Estados de Sergipe e da Bahia.

## Material e Métodos

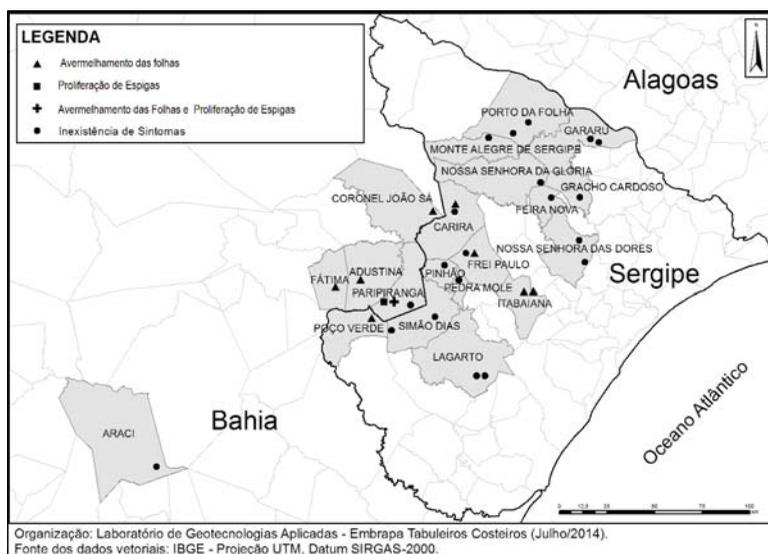
Para avaliação da incidência de plantas de milho com sintomas de enfezamentos e da ocorrência de cigarrinhas foi feita a determinação dos municípios produtores de milho de Sergipe e também daqueles da divisa entre Sergipe e Bahia. As avaliações foram feitas cerca de 60 dias após a semeadura do milho. As amostragens das plantas foram feitas por inspeção visual das plantas para verificar a presença de sintomas dos enfezamentos, em três pontos ao acaso da lavoura por meio de caminhamento em três fileiras de milho com pelo menos trinta plantas cada.

Amostras de folhas com sintomas de enfezamentos foram coletadas, preservadas em caixas térmicas com gelo, em campo e em freezer, em laboratório, e utilizadas nas análises para detecção de mollicutes. A detecção dos mollicutes nas plantas com sintomas foi feita através de teste de PCR. Para tanto a extração do DNA foi conduzida segundo protocolo de SAGHAI-MAROOF et al., (1984) modificado e a detecção de espiroplasma e de fitoplasma foi feita utilizando-se respectivamente, os seguintes pares de oligonucleotídeos: CSSF2: 5'- GGC AAA AGA TGT AAC AAA AGT-3' e CSSR6: 5'-GTT ACT TCA ACA GTA GTT GCG- 3' (Barros et al., 2001); e R16F2: 5'-ACG ACT GCT GCT AAG ACT GG-3' e R16R2: 5'-TGA CGG GCG GTG TGT ACA AAC CCC G-3' Lee et al. (1993). Foram utilizadas as condições de reação descritas por LEE e outros (1993) em PCR multiplex.

Para coleta das cigarrinhas, em cada lavoura foram amostrados três pontos tomados ao acaso, para composição de uma amostra. A coleta em cada um desses pontos foi feita através de 30 movimentos da rede entomológica entre fileiras de plantas de milho, em um espaço de cerca de 10m. Os insetos coletados foram colocados em sacos de plástico, armazenados em caixa térmica, com gelo, e posteriormente colocados por 20 minutos em freezer. Esses insetos foram transferidos para frascos de vidro contendo álcool 70%. Sob microscópio estereoscópico, as cigarrinhas foram separadas, de acordo com as principais características morfológicas (cor amarelo palha e duas manchas negras na cabeça da *D. maidis*), e preservadas em álcool 70%.

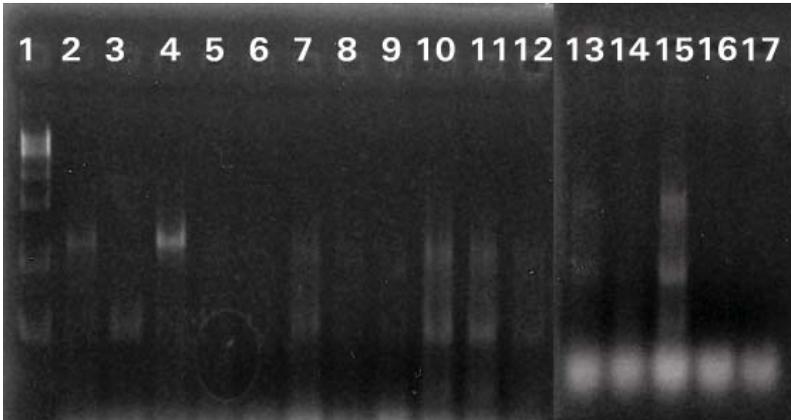
## Resultados e Discussão

O monitoramento da incidência de mollicutes e de cigarrinhas *Dalbulus maidis* em áreas de plantio de milho na safra 2013 nos Estados de Sergipe e da Bahia foi realizado em lavouras localizadas nos seguintes municípios: Porto da Folha, Gararu, Monte Alegre de Sergipe, Graco Cardoso, Feira Nova, Carira, Nossa Senhora Das Dores, Frei Paulo, Pinhão, Pedra Mole, Itabaiana, Simão Dias, Lagarto, Poço Verde, Coronel João Sá, Fatima, Paripiranga, Adustina e Araci (Figura 1). Dentre estes, municípios foi possível observar lavouras com ocorrência de sintomas dos enfezamentos em Carira, Frei Paulo, Itabaiana e Poço Verde em Sergipe, e em Paripiranga, Adustina, Coronel João Sá e Fátima na Bahia.



**Figura 1.** Mapa dos municípios visitados para levantamento da ocorrência de enfezamentos causados por mollicutes e de cigarrinhas na cultura do milho nos Estado de Sergipe e da Bahia na safra de 2013, destacando-se a presença de sintomas como avermelhamento das folhas e a proliferação de espigas bem como a ausência de sintomas.

Com o material vegetal coletado nas lavouras que apresentaram sintomas, foram feitos o teste de PCR multiplex para a detecção dos mollicutes (Figura 2), onde foi possível detectar a presença do fitoplasma e do espiroplasma em amostras de Itabaiana – SE, Paripiranga – BA, Frei Paulo – SE, Coronel João Sá - BA, Carira – SE e Adustina – BA.



**Figura 2.** Resultado do PCR multiplex para detecção simultânea de espiroplasma e de fitoplasma em amostras de folhas: 1- Marcador 1Kb; 2- Controle positivo Fitoplasma; 3- Controle positivo Espiroplasma; 4 e 5- Amostras de Itabaiana- SE; 6 e 7- Amostras de Paripiranga (espigas)-BA; 8- Amostra de Poço Verde - SE; 9- Amostra de Fátima - BA; 10- Amostra de Frei Paulo - SE; 11- Amostra de Coronel João Sá - BA; 12- Amostra de Carira - SE; 13- Amostra de Adustina – BA; 14- Amostra de Carira - SE; 15- Amostra de Paripiranga (folhas)-BA; 16 e 17- Controle Negativo.

Na safra 2013, foi possível verificar a ocorrência da cigarrinha *D. maidis* em todos os municípios amostrados.

Em levantamento realizado por (SANTOS et al., 2013), na safra 2012 somente foram detectados sintomas de fitoplasma em propriedade localizada em Simão Dias no Estado de Sergipe. No levantamento atual o fitoplasma foi detectado em outros municípios e também registrou-se a ocorrência do espiroplasma, tanto em municípios de Sergipe, quanto da Bahia. Este fato pode estar associado ao monocultivo de milho que ocorre nestas regiões na estação chuvosa bem como a ocorrência do inseto vetor em todas as áreas amostradas.

## Conclusões

O fitoplasma e o espiroplasma, agentes etiológicos do enfezamento-vermelho e do enfezamento-pálido, respectivamente, bem como a cigarrinha *D. maidis* foram detectados em plantios de milho nos Estados de Sergipe e da Bahia, na safra 2013.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, à Embrapa Tabuleiros Costeiros pela estrutura laboratorial e transporte para as viagens, e aos agricultores de Sergipe que permitiram que suas lavouras fossem avaliadas.

## Referências

AGRIANUAL 2014: anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio. 463 p.

BARROS, T. S. L.; DAVIS, R. E.; RESENDE, R. O. Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt spiroplasma, *Spiroplasma kunkelii*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 85, p. 475-480, 2001.

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.

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.; RESENDE, R. O.; GIMÉNEZ PECCI, M. L. P.; LAGUNA, I. G.; HERRERA, P.; CRUZ, I. Ocorrência e perdas causadas por mollicutes e vírus na cultura do milho safrinha no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 19-25, jan. 2003.

SAGHAI MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley, Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 81, p. 8014- 8018, 1984.

SANTOS, J. M. S. M.; TALAMINI, V.; SABATO, E. O.; OLIVEIRA, F. A. de; SANTOS, C. C. Monitoramento da incidência de enfezamentos causados por mollicutes e de cigarrinhas na cultura de milho no estado de Sergipe. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS, 3., 2013, Aracaju. **Anais....** Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.