

Sete Lagoas, MG  
Setembro, 2010

### Autores

**Elizabeth de Oliveira Sabato**

Bióloga, Doutora em  
Fitotecnia/Fitopatologia  
Pesquisadora da  
Embrapa Milho e  
Sorgo, Sete Lagoas,  
MG, beth@cnpmis.  
embrapa.br

**Elena Charlotte Landau**

Bióloga, Doutora  
em Ecologia/  
Agrometeorologia,  
Pesquisadora da  
Embrapa Milho e  
Sorgo, Sete Lagoas,  
MG, landau@cnpmis.  
embrapa.br

## Influência da Temperatura nos Sintomas Causados pelo Enfezamento Pálido do Milho

### Introdução

Os enfezamentos causados por mollicutes podem causar perdas expressivas na cultura do milho (OLIVEIRA et al., 1998; MASSOLA JUNIOR et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2003). Esses mollicutes são transmitidos de forma persistente e propagativa pela cigarrinha *Dalbulus maidis*. O agente causal do enfezamento pálido é o *Spiroplasma kunkelii*, que infecta o floema das plantas de milho e interfere na sua fisiologia e nutrição, causando redução no desenvolvimento e na produção, sendo esses efeitos variáveis para diferentes cultivares (NAULT, 1980; OLIVEIRA et al. 2002b, 2005; LOPES; OLIVEIRA, 2004).

Avaliações dos efeitos da inoculação de espiroplasma em diferentes materiais genéticos de milho têm evidenciado que a maioria é susceptível à infecção por esse patógeno, e estudos sobre o controle genético da resistência do milho ao enfezamento pálido são indicativos de resistência predominantemente quantitativa (SILVA et al., 2002, 2003; SILVEIRA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010).

Em campo, os sintomas do enfezamento pálido do milho se manifestam por ocasião do enchimento de grãos (OLIVEIRA et al., 1998). Porém, cultivares de milho susceptíveis a essa doença, quando cultivadas em vasos, e submetidas à inoculação com espiroplasma, apresentam sintomas foliares em cerca de 60 dias, época do florescimento (OLIVEIRA et al., 2002a).

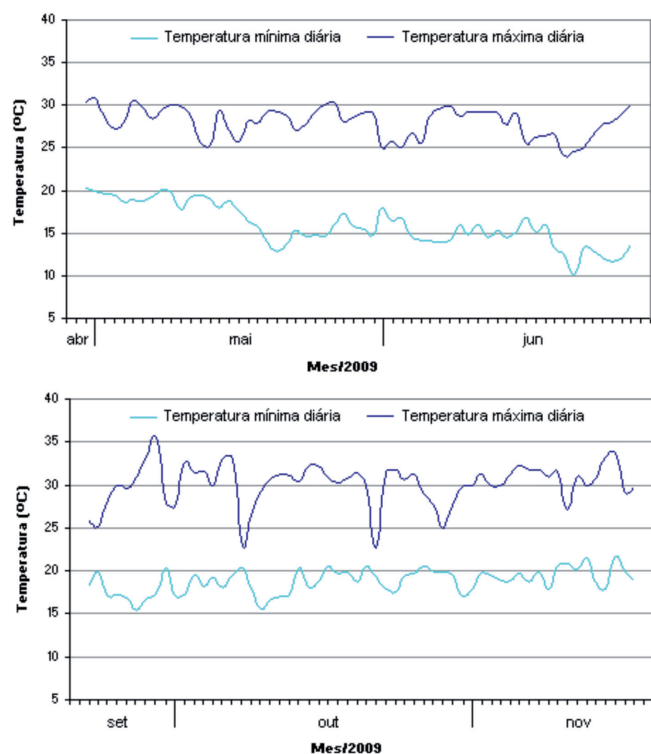
Há evidências de que a temperatura ambiente pode influenciar a incidência dos enfezamentos e a aquisição e a transmissão dos mollicutes espiroplasma e fitoplasma, em milho (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2003; OLIVEIRA et al., 2007). Contudo, há carência de informações sobre os efeitos da temperatura ambiente na expressão de sintomas e nos danos causados pelo enfezamento pálido. Essas informações poderiam contribuir para se entender aspectos da epidemiologia dessa doença e para o estabelecimento de metodologia para a seleção de materiais de milho com resistência genética.

Para verificar a influência da temperatura ambiente nos sintomas causados pelo enfezamento pálido, foi conduzido um experimento sob duas condições distintas.

### Material e Métodos

Trinta e dois materiais genéticos de milho (incluindo um controle conhecidamente susceptível ao enfezamento pálido) foram submetidos ou não à inoculação com *Spiroplasma kunkelii* e cultivados sob duas diferentes condições ambientais. As plantas foram cultivadas em viveiro telado com cobertura plástica, durante dois diferentes períodos, abril-junho e setembro-novembro, sob condições de temperaturas médias para dia/noite  $27.8 \pm 1.8 / 15.6 \pm 2.5$  °C (média  $20.2 \pm 1.7$  °C) e  $30.4 \pm 2.4 / 18.9 \pm 1.4$  °C (média  $23.7 \pm 1.2$  °C), condição 1 (experimento 1) e condição 2 (experimento 2), respectivamente. A variação diária dessas

temperaturas, em ambos esses períodos, encontra-se na Figura 1.



**Figura 1.** Variação diária da temperatura na Estação Meteorológica de Sete Lagoas/MG na época em que foram conduzidos os experimentos 1 e 2.

Em cada experimento, os tratamentos foram repetidos cinco vezes, sendo uma unidade experimental constituída por uma planta por vaso, contendo 5kg de solo, totalizando 320 vasos para cada experimento, em delineamento experimental inteiramente casualizado. Para inoculação, duas cigarrinhas *Dalbulus maidis* infectantes com espiroplasma, obtidas sob condições controladas (OLIVEIRA et al., 2003; OLIVEIRA; LOPES, 2004) foram confinadas por plântula, aos oito dias após a semeadura. As plantas dos tratamentos sem inoculação foram submetidas a duas cigarrinhas sadias, não infectantes.

Aos 60 dias, após a semeadura, os sintomas de enfezamento pálido foram avaliados utilizando-se escala de notas de 1 a 5, sendo: (-) ausência de sintomas; (+) pelo menos uma folha com sintomas; (+ +) cerca de 25% das folhas com sintomas; (+ + +) cerca de 50% das folhas com sintomas; (+ + + +) mais de 70% das folhas com sintomas; (+ + + + +) 100% das folhas com sintomas e desenvolvimento da planta reduzido.

As plantas foram colhidas e secas em estufa 60 °C até peso constante. Foram pesadas e o percentual de redução causado pela inoculação foi calculado, para cada material genético. Para esse cálculo, foram utilizados os valores médios de peso das plantas sadias e os valores médios de peso das plantas submetidas à inoculação. Valores negativos foram substituídos pelo valor zero, para indicar que não houve redução.

## Resultados e Discussão

Nas condições 1 (experimento 1) e 2 (experimento 2), respectivamente, 18 e 20 materiais genéticos apresentaram sintomas do enfezamento pálido, e 22 e 54% do total de plantas doentes apresentaram severidade de sintomas com nota 3 ou superior (Tabela 1). Todas as plantas do tratamento-controle apresentaram sintomas de enfezamento pálido, em ambos os experimentos, confirmando a eficiência da inoculação do espiroplasma.

**Tabela 1.** Notas para a severidade de sintomas do enfezamento pálido em diferentes materiais genéticos de milho na condição 1) 27,8/15,6 °C (dia/noite) e na condição 2) 30,4/18,9 °C (dia/noite).

Material	Experimento 1										Experimento 2									
	Sem inoculação					Inoculado com espiroplasma					Sem inoculação					Inoculado com espiroplasma				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++	-	-	+	+++	-	-
5	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+++	-	+++	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	-	m	-	-	+	-	m	-
11	-	-	-	-	-	+++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+
12	-	-	-	-	-	+++	+++	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+++	+	+	+++	+++	+	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
16	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+++	+++	+	+	-	+	+	+	+	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	m	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
27	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+	+	-	+	+	+	+	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	+	+	+	+	-
Controle	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	+++	+++	+

m = planta morta

Em geral, a maioria dos materiais apresentaram maiores reduções em peso seco das plantas, causadas pela inoculação, nas condições do experimento 2. Apenas quatro materiais apresentaram maiores reduções nas condições do experimento 1, o que pode ser possivelmente atribuído a variações genéticas das plantas (Tabela 2).

Cinco materiais, incluindo o controle susceptível, se destacaram, apresentando reduções em peso seco, de, aproximadamente, 2, 0, 0, 8, 34%, e 31, 16, 22, 31, 51% para as condições 1 e 2, respectivamente (Tabela 2).

Esses resultados evidenciam que temperaturas em torno de 30/19 °C (dia/noite) podem intensificar os sintomas e os danos pelo enfezamento pálido causado por espiroplasma. Efeitos semelhantes foram relatados por Nault (1980) comparando o desenvolvimento e sintomas de plantas de milho infectadas por espiroplasma, e cultivadas sob condições de temperatura 27/18 °C (dia/noite) e 31/25 °C (dia/noite). Os sintomas dessa doença foram menos intensos sob condições de 27/18 °C que sob condições de 31/25 °C.

**Tabela 2.** Médias da redução de peso seco causada pela inoculação de espiroplasma em diferentes materiais genéticos de milho na condição 1 (experimento 1) 27,8/15,6 °C (dia/noite) e na condição 2 (experimento 2) 30,4/18,9 °C (dia/noite)

Material	Experimento 1			Experimento 2		
	Sadio	esp.(*)	Redução	Sadio	esp.(*)	Redução
1	38,8	38,1	1,8%	65,3	45,1	30,9%
2	40,1	40,2	0,0%	48,0	40,5	15,7%
3	40,5	33,4	17,6%	53,8	50,6	5,9%
4	44,3	35,7	19,6%	60,8	58,1	4,5%
5	33,5	39,3	0,0%	56,5	59,5	0,0%
6	40,4	39,1	3,2%	58,7	59,4	0,0%
7	36,0	39,8	0,0%	62,5	61,1	2,2%
8	38,1	38,3	0,0%	59,5	46,7	21,5%
9	42,4	48,4	0,0%	62,4	59,6	4,4%
10	36,9	34,0	0,0%	55,9	56,3	0,0%
11	36,4	33,2	8,6%	61,9	42,7	31,1%
12	38,4	44,9	0,0%	53,9	53,0	1,7%
13	37,6	40,0	0,0%	52,9	60,3	0,0%
14	48,0	39,4	17,9%	57,7	58,7	0,0%
15	35,7	35,4	0,7%	62,6	54,7	12,7%
16	36,5	38,1	0,0%	61,3	55,1	10,1%
17	50,2	55,1	0,0%	52,7	63,0	0,0%
18	49,3	45,0	8,9%	52,9	60,7	0,0%
19	51,5	48,3	6,3%	53,8	48,4	10,1%
20	42,3	41,5	1,8%	52,6	55,9	0,0%
21	41,1	42,6	0,0%	55,3	49,5	10,5%
22	44,6	41,8	6,4%	66,5	58,1	12,5%
23	47,2	45,5	3,7%	60,0	62,3	0,0%
24	38,6	37,4	3,0%	52,4	53,6	0,0%
25	45,4	46,1	0,0%	62,8	67,1	0,0%
26	35,5	47,2	0,0%	59,2	52,7	11,1%
27	46,1	43,5	5,6%	56,4	50,0	11,3%
28	44,5	39,5	11,1%	51,7	57,8	0,0%
29	41,5	41,0	1,3%	66,1	58,4	11,6%
30	42,1	38,5	8,5%	53,9	48,0	11,0%
31	39,2	46,1	0,0%	60,1	58,2	3,1%
Controle	38,6	25,6	33,7%	60,7	29,7	51,1%

esp.(\*) = inoculado com espiroplasma

É possível que esses efeitos sobre os sintomas e danos do enfezamento pálido sejam causados por maior multiplicação do espiroplasma nos tecidos da planta, favorecida pelas temperaturas mais elevadas. Esse patógeno pode ser cultivado in vitro, em meio de cultura, e sua multiplicação ocorre sob condições de temperatura em torno de 30 °C (HOGENHOUT, 2004). A maior intensidade de sintomas de doenças vegetais está associada à maior proliferação dos agentes causais, fato que permite a avaliação da severidade com base em escala de notas e a distinção de materiais com relação à resistência às doenças (HILTY et al., 1979; SILVA et al., 2002).

Por outro lado, deve-se considerar também a possibilidade da ocorrência de alterações na fisiologia e na bioquímica das plantas de milho, quando submetidas a essas condições de temperatura que, indiretamente, possam favorecer a multiplicação e a disseminação do espiroplasma nos tecidos do floema.

Esses efeitos negativos da temperatura, acentuando a reação de alguns materiais genéticos de milho a essa doença necessitam ser considerados quando se pretende realizar avaliações para seleção de materiais resistentes. Materiais previamente selecionados como resistentes ao enfezamento pálido, sob condições de temperaturas amenas (em torno de 28/15 °C) podem, possivelmente, apresentar comportamento de susceptibilidade, quando cultivados sob condições de temperaturas altas (30/19 °C).

Considerando esses resultados, na metodologia para seleção de milho resistente ao enfezamento pálido, seja em condições controladas de inoculação, ou em condições de infecção natural em campo, devem ser consideradas as condições da temperatura ambiente. A seleção realizada sob condições de temperatura em torno de 30/19 °C (dia/noite), nos estádios iniciais de desenvolvimento, poderá garantir maior eficiência do processo.

## Conclusões

Plantas de milho infectadas por espiroplasma e cultivadas sob condições de temperatura em torno de 30/19 °C apresentam maior intensidade de sintomas em relação àquelas cultivadas sob

condições de temperatura em torno de 28/15 °C.

Os danos do enfezamento pálido no desenvolvimento de plantas de milho podem ser maiores em cultivos sob condições de temperatura em torno de 30/19 °C, em relação a plantas cultivadas sob condições de temperatura em torno de 28/15 °C.

## Referências

- HILTY, J. W.; HADDEN, C. H.; GARDEN, F. T. Response of maize hybrids and inbred lines to gray leaf spot disease and the effects on yield in Tennessee. **Plant Disease Report**, Beltsville, v. 63, n. 6, p. 515-518, 1979.
- HOGENHOUT, S. A. Techniques for spiroplasma cultivation in vitro. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho: molicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 163-168.
- LOPES, J. R. S.; OLIVEIRA, C. M. Vetores de vírus e molicutes em milho. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho: molicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 35-60.
- MASSOLA JÚNIOR, 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.; OLIVEIRA, A. C. Incidência de enfezamento e de maize rayado fino virus em milho em diferentes épocas de plantio e relação entre a expressão de sintomas foliares dos Enfezamentos e produção. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 221-224, jul./set. 2003.

OLIVEIRA, C. M.; LOPES, J. R. S. Técnicas para criação da cigarrinha-do-milho e inoculação de mollicutes e vírus em plantas. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 89-115.

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, 2002a.

OLIVEIRA, E.; MAGALHÃES, P. C.; GOMIDE, R. L.; VASCONCELOS, C. A.; SOUZA, I. R. P.; CRUZ, I.; SHAFFERT, R. Growth and nutrition of mollicute infected maize. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, n. 9, p. 945-949, set. 2002b.

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M.; MAGALHÃES, P. C.; ANDRADE, C. L. T.; HOGENHOUT, S. Spiroplasma and phytoplasma infection reduce kernel production, and nutrient and water contents of several but not all maize cultivars. **Maydica**, Bergamo, v. 50, p. 171-178, 2005.

OLIVEIRA, E.; LANDAU, E. C.; GUIMARÃES, P. E.; GUIMARÃES, L. J. M. Resistência do milho ao enfezamento causado por espiroplasma e ao enfezamento causado por Fitoplasma. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, 4., 2010, Goiânia. **Resumos**. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 226.

OLIVEIRA, E.; SANTOS, J. C.; MAGALHÃES, P. C.; CRUZ, I. Maize bushy stunt phytoplasma transmission is affected by spiroplasma acquisition and environmental conditions. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 60, n. 2, p. 229-230, 2007.

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.

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.

SILVA, R. G.; GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; OLIVEIRA, E. Controle genético da resistência aos enfezamentos do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 924-928, 2003.

SILVA, R. G.; GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; OLIVEIRA, E. Identificação dos níveis e fontes de resistência aos enfezamentos do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 18-29, 2002.

SILVEIRA, F. T.; MORO, J. R.; SILVA, H. P.; OLIVEIRA, J. A.; PERECIN, D. Herança da resistência ao enfezamento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1717-2812, 2008.

#### Circular Técnica, 151

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Milho e Sorgo**  
**Endereço:** Rod. MG 424 km 45 Caixa Postal 151  
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG  
**Fone:** (31) 3027 1100  
**Fax:** (31) 3027 1188  
**E-mail:** sac@cnpmis.embrapa.br  
1ª edição  
1ª impressão (2010): on line

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



#### Comitê de publicações

**Presidente:** Antônio Carlos de Oliveira.  
**Secretário-Executivo:** Elena Charlotte Landau.  
**Membros:** Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes, Paulo Afonso Viana, João Herbert Moreira Viana, Guilherme Ferreira Viana e Rosângela Lacerda de Castro.

#### Expediente

**Supervisão editorial:** Adriana Noce.  
**Revisão de texto:** Antonio Claudio da Silva Barros.  
**Tratamento das ilustrações:** Tânia Mara A. Barbosa.  
**Editoração eletrônica:** Tânia Mara A. Barbosa.