

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM DO MILHO  
OCORRENDO NO MUNICÍPIO DE ITUMBIARA-GO**

**FRANCIANE GOMES DA SILVA**

**JONAS JÄGER FERNANDES**  
(Orientador)

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Uberlândia - MG  
Novembro - 2004

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM DO MILHO  
OCORRENDO NO MUNICÍPIO DE ITUMBIARA-GO**

**APROVADO PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 29/11/2004**

---

Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Césio Humberto de Brito  
(Membro da Banca)

---

Prof. Ms. Élcio Alves  
(Membro da Banca)

Uberlândia - MG  
Novembro - 2004

## **AGRADECIMENTOS,**

Agradeço a Deus pela vida, pelo dom de aprender e praticar.

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup> Dr. Jonas Jäger Fernandes por ter me aceitado como orientada, acreditando em mim e por ter oferecido tantas oportunidades de aprender. E por tantas coisas mais que seriam indescritíveis.

Suas atitudes profissionais e pessoais sem restar dúvidas ajudaram na formação do meu caráter profissional e pessoal. Atitudes estas que demonstram àqueles que o acompanham um grande exemplo de dedicação e amor naquilo que faz.

Neste momento, procuro entre as palavras, aquela que gostaria que seu coração ouvisse do meu, no entanto a mais simples delas me parece a mais expressiva: obrigada!

A minha família principalmente minha mãe e irmã que percorreram juntas a mim nesta grande jornada.

Aos funcionários do Lafip, Roberto e Sr Antônio e do Lasem, Adílio que colaboraram de forma atenciosa e prestativa para realização deste trabalho.

Aos meus amigos de sala que me deram apoio e souberam me compreender mesmo nos momentos mais difíceis e estressantes.

Ao Sr. Élcio Alves por ter cedido as “matérias-primas” do presente trabalho, facilitando assim o desenvolvimento de um todo realizado.

Ao meu namorado Wesley pelo carinho, paciência e companheirismo em mais uma e longa difícil jornada concluída em minha vida.

Aos membros de minha banca por aceitarem o convite para fazerem parte da última etapa para minha formação de Agrônoma.

## ÍNDICE

<b>RESUMO</b> .....	04
<b>1-INTRODUÇÃO</b> .....	05
<b>2-REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	09
<b>3-MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
3.1. Fonte do isolado viral.....	15
3.2. Preservação dos isolados virais.....	16
3.2.1. Manutenção “ <i>in vivo</i> ” dos isolados.....	16
3.2.2. Manutenção “ <i>in vitro</i> ” dos isolados virais.....	16
3.3. Avaliação da gama de hospedeiros do isolado GO-01.....	16
3.4. Avaliação de amostras milho de campo.....	19
3.4.1 Obtenção de amostras de milho com sintomas de mosaico.....	19
3.4.2 Teste de transmissão mecânica.....	20
3.5. Análise sorológica dos isolados virais.....	21
<b>4-RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
4.1. Avaliação da gama de hospedeiros.....	23
4.2. Avaliação de amostras milho com sintomas de mosaico comum.....	26
4.3. Análise sorologia pelo teste de ELISA-indireto.....	28
<b>5-CONCLUSÕES</b> .....	31
<b>6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	33

## RESUMO

Objetivando avaliar parcialmente a gama de hospedeiro e iniciar a caracterização molecular do isolado viral GO-01, coletado em plantas de milho com sintomas de mosaico no Sul de Góias, com ênfase em espécies infestantes e espécies cultivadas, além de avaliar a transmissibilidade, caracterização sintomatológica e molecular de outros isolados também coletados em plantas de milho com mosaico, foi instalado um experimento em casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia. O ensaio foi instalado em duas épocas e em cada uma realizou-se uma avaliação de incidência da doença. Foi observado que as espécies *Sorghum halepense*, *Sorghum bicolor*, *Zea mays* L, *Digitaria horizontalis* e *Saccharum officinarum* apresentaram-se suscetíveis pela presença de sintomas foliares típicos de mosaico. As espécies *Braquiaria brizantha*, *Braquiaria ruziziensis*, *Braquiaria decumbens*, *Cenchrus echinatus* e *Eleusine indica* não apresentaram estes sintomas. Os isolados identificados como GO-01, GO-02, GO-03, GO-06, GO-07, GO-08 e GO-10 caracterizaram-se como mecanicamente transmissíveis e com sintomas característicos de mosaico e mosqueado. As plantas de milho inoculadas com os isolados GO-03 e GO-07 se recuperaram dos sintomas, dificultando a diagnose da virose como descrita por Shurtleff, 1986. Já os isolados GO-04, GO-05 e GO-09 não caracterizaram-se como mecanicamente transmissíveis. Através do teste de Elisa- indireto ficou caracterizado que os isolados GO-01 (sorgo e cana-de-açúcar), GO-02, GO-06, GO-08 e GO-10 pertencem ao gênero *Potyvirus*.

## **1. INTRODUÇÃO**

A cultura do milho ocupa lugar de destaque dentre os cereais cultivados no mundo, não só pelo grande progresso que tem havido no acúmulo de conhecimento técnico-científicos relacionados com essa espécie vegetal, mas também pelo grande valor econômico, papel sócio econômico e imenso potencial que ela apresenta. Fazendo com que a importância desse cereal não se restrinja ao fato de ser produzido em grande volume e sobre imensa área cultivada.

O milho vem sendo utilizado tradicionalmente como fonte energética na alimentação humana e de animais domésticos (70% da demanda mundial), que em última análise chegam à mesa do consumidor na forma de carne, o ovos, leite, queijo, etc. Mais recentemente seu uso se ampliou também para a industrialização (produção de amido, álcool, adoçantes, óleos, etc.) (Silva, 2004). O uso do milho como matéria-prima básica para uma série enorme de produtos industrializados ocorreu devido ao seu alto conteúdo de carboidratos, principalmente amido, assim como outros componentes, tais como proteínas, óleo e vitaminas que o tornam um produto bastante apreciado para ser utilizado

comercialmente, criando e movimentando grandes complexos industriais, onde milhares de empregos são criados.

O último relatório do USDA, referente a safra 2003/04, promove correção na produção mundial de milho, passando de 624,33 milhões de toneladas para 621,73 milhões de toneladas. Os principais países produtores de milho nesta safra foram EUA, China, Brasil, com 203, 127 e 40 milhões de toneladas, respectivamente (Silva, 2004).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho com uma produção estimada pela Conab de 42,5 milhões de toneladas, superando em 19,61% a obtida em 2002, que foi de 35,5 milhões de toneladas e perdendo apenas para os Estados Unidos e a China: o maior motivo desta alta produção é o aumento na área plantada com milho safrinha que ultrapassou 43,5 milhões de hectares, (Tavares, 2004). Embora essa produção seja distribuída em todas as regiões do país, ela se concentra nas regiões Sudeste (23,2%), Sul (50,4%) e Centro-Oeste (16,7%), (Silva, 2004).

O milho sempre foi considerado uma planta rústica, capaz de suportar bem vários tipos de estresse ambiental. Entretanto, com a expansão das fronteiras agrícolas, com a prática da monocultura e com a ampliação das épocas de cultivo, esta realidade mudou. Surgiram novos problemas para a cultura, principalmente com relação às doenças, capazes de afetar seriamente o desempenho econômico das lavouras (Pereira, 1997). A intensificação do cultivo em áreas irrigadas, com mais de uma safra por ano, principalmente quando são realizados cultivos sucessivos de milho, permite a perpetuação e o acúmulo de inoculo de patógenos, bem como a sobrevivência de insetos vetores, e assim

aumenta grandemente a incidência e a severidade de muitas doenças (Fernandes; Oliveira, 2000).

Dentre as viroses ocorrentes destaca-se a doença conhecida como Mosaico Comum do Milho (*Zea mays* L.) que tem sido encontrada em alta incidência em várias regiões produtoras de milho no Brasil. Quando ocorre isoladamente em plantas de milho, pode causar redução da ordem de 50% na produção quando ocorre associada a outras viroses, seus efeitos podem ser mais drásticos (Fernandes; Oliveira, 2000).

O Mosaico Comum do Milho tem se destacado entre as doenças mais importantes na cultura do milho, devido ao aumento na sua incidência e pela possibilidade de perdas que podem acarretar à produção de sementes e grãos (Waquil et al., 1996).

Os sintomas foliares do mosaico caracterizam-se pela presença de manchas verde-claro contrastadas com manchas verde normal e, ocasionalmente, enfezamento e necrose (Pirone, 1972; Koike; Gillaspie, 1989). Esta virose é causada por um complexo viral pertencente ao gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae* (Almeida, 1999), cuja transmissão é realizada por várias espécies de afídeos, entre os quais destaca-se o pulgão do milho, *Rhopalosiphum maidis* L., pela eficiência na transmissão (Edwarson; Cristie, 1991).

No entanto a identificação de doenças causadas por vírus, em condições de campo, torna-se difícil por uma série de fatores, entre eles a não ocorrência de uma sintomatologia bem definida, a existência de vários vírus numa mesma área e a ocorrência de estirpes diferentes de um mesmo vírus. E é nesse contexto que a identificação de uma virose deve levar em consideração, além de outros cuidados, o estudo de reações do vírus em hospedeiros

diferenciais e a transmissibilidade da doença para plantas sadias e outras propriedades biológicas e moleculares.

O presente trabalho objetivou, (a) avaliar a gama de hospedeiros parcial do isolado viral G0-01, com ênfase em algumas espécies infestantes e espécies cultivadas; e (b) avaliar a transmissibilidade e iniciar a caracterização molecular de isolados virais coletados em plantas de milho com mosaico no Sul de Goiás.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

O mosaico comum do milho tem sido encontrado em alta incidência em várias regiões produtoras de milho no Brasil (Fernandes; Oliveira, 2000). A virose mosaico comum geralmente ocorre em surtos, sendo favorecida pela presença de fonte de inóculo proporcionada por gramíneas infectadas, presença de afídeos vetores, suscetibilidade da cultivar e por plantios tardios da safra de verão (Almeida, 1998).

Os sintomas foliares dessa virose caracterizam-se pela presença de manchas verde-claro, que contrastam com manchas verde normal em padrão de mosaico. Em geral, esses sintomas são muito nítidos em plantas jovens e tendem a desaparecer na medida em que as plantas atingem as fases de florescimento e maturação, dificultando a diagnose da doença (Shurtleff, 1986). Ainda pode causar acentuada redução no crescimento das plantas e no tamanho das espigas e dos grãos, sendo esses efeitos variáveis principalmente em função da época de infecção, da cultivar de milho e da estirpe do vírus em questão (Fernandes; Oliveira, 2000).

Segundo Dudienas et al. (1997), o mosaico comum tem sido observado em associação com os enfezamentos causados por fitoplasma e espiroplasmas, e também com outros vírus; como o vírus da risca (*Maize rayado fino virus*, MRFV), gênero Marafivirus. E quando ocorre a associado a outras doenças, sua diagnose também é bastante dificultada.

No Brasil, a virose foi inicialmente descrita por Costa et al. (1971) como sendo causada por estirpes do vírus do mosaico da cana-de-açúcar (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV). O SCMV pertence a família Potyviridae, gênero *Potyvirus*, forma partículas alongadas, com cerca de 750 µm de comprimento e 13 µm de diâmetro (Pinto et al., 1997).

Recentemente, o SCMV foi dividido em quatro espécies: *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV), *Sorghum mosaic virus* (SrMV) e SCMV. Todos esses vírus e suas estirpes constituem um complexo viral que infectam o milho, causando sintomas de mosaico, e pertencem à família *Potyviridae*, gênero *Potyvirus* (Shukla et al., 1989; Hollings; Brunt, 1981; Hari, 1981; Dougherty; Carrington, 1988; Shuka et al., 1991).

Segundo Brunt et al. (1996), dentre aproximadamente 100 vírus que infectam o milho, as espécies do gênero *Potyvirus*: *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) e *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV) e espécies de outros gêneros como: *Barley stripe mosaic virus* (BSMV) – gênero *Hordeivirus*, *Brome mosaic virus* (BMV) – gênero *Bromovirus* e *Mayzechlorotic mottle virus* (MCMV) – gênero *Machlomovirus* constituem como espécies que são transmitidas por inoculação mecânica pela técnica de EVT (extrato vegetal tamponado) quando inoculadas no limbo foliar. Tem

sido demonstrado que estirpes do SCMV podem infectar diferencialmente a cana-de-açúcar, milho, sorgo, milheto, trigo, cevada, centeio, e arroz, assim como numerosas outras gramíneas cultivadas e selvagens (Pinto et al., 1997).

Na natureza, mas de 20 espécies de afídeos são insetos vetores dos vírus que causam o mosaico comum do milho. Os insetos vetores adquirem os vírus em poucos segundos ou minutos, quando se alimentam em uma planta infectada. As espécies *Rhopalosiphum maidis*, *Schizaphis graminum* e *Myzus persicae* são vetores muito eficientes (Fernandes; Oliveira, 2000; Pirone, 1972).

No Brasil, o mosaico comum do milho não tem sido extensivamente estudado quanto à existência de estirpes e diferenciação nesses potyvirus (Pinto et al., 1997; Fernandes; Oliveira, 2000).

A existência de um elevado número de estirpes desses potyvirus que causam o mosaico comum do milho e que podem sobreviver em outras espécies hospedeiras pertencentes à família Poaceae, podem aumentar a importância desta doença. (Edwardson; Christie, 1991).

A avaliação de 115 cultivares avaliados em Ensaio Nacional-Região Centro Oeste, do ano agrícola 1997/98 revelou que a maioria dos cultivares mostrou-se suscetível, apresentando sintomas da virose, aos 15 dias após a inoculação. Destas cultivares apenas 16 apresentaram menos de 20% de incidência desta virose, 64 cultivares apresentaram acima de 50% de incidência e os demais apresentaram incidência intermediária a estes níveis (Almeida et al., 2001).

Almeida et al. (2001), avaliaram a suscetibilidade de espécies de gramíneas, cultivadas e infestantes, em relação ao mosaico comum do milho. Dentre quatorze gramíneas testadas destacaram-se pela alta susceptibilidade *Brachiaria plantaginea* (Capim-marmelada), *Digitaria horizontalis* (Capim-colchão), *Eleusine indica* (Capim-pé-de-galinha), *Sorghum bicolor* (Sorgo granífero) e *Zea mays* L., apresentando sintomas de mosaico severo. Sorgo granífero mostrou ser a espécie mais suscetível, sendo que algumas plantas apresentaram necroses nas folhas. Plantas das espécies *Brachiaria decumbens* e *Cenchrus echinatus* (capim-carrapicho) mostraram-se também suscetíveis no entanto, com sintomas de mosaico leve. As espécies que não mostraram sintomas foliares de mosaico característicos foram: *Avena sativa*, *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria ruziziensis*, *Saccharum officinarum*, *Sorghum halepense* (capim massambará) e *Triticum aestivum* (trigo). Segundo Almeida et al., 2001 no caso de plantas assintomáticas, pôde-se constatar através do teste sorológico dot-Elisa, que algumas plantas de capim carrapicho e de *Pennisetum americanum* (milheto), mesmo não mostrando sintomas da doença, estavam infectadas pelos vírus. Enquanto que as plantas com sintomas evidentes de mosaico tiveram a infecção confirmada através do resultado positivo do dot-ELISA.

Almeida et al. (2001) também analisaram amostras de folhas de milho apresentando sintomas de mosaico, provenientes de diversos municípios, localizados em regiões produtoras de milho, pelo teste de dot-ELISA, para verificar a presença de potyvírus. A presença de potyvirus foi confirmada nas amostras de folhas de milho apresentando sintomas típicos de mosaico, provenientes de São Paulo (Vale do Paranapanema e Alta

Mogiana), Minas Gerais, Goiás (Santa Helena de Goiás) e Distrito Federal. Observando-se que a virose encontra-se disseminada em importantes regiões produtoras de milho.

Oliveira et al. (2003) avaliaram a incidência de viroses em 24 lavouras de milho no Paraná e verificaram que todas as plantas com sintomas do MDMV (*Maize dwarf mosaic virus*) e do MRFV (*Maize rayado fino virus*) apresentavam a infecção por estes vírus. A incidência foi inferior a 0,66%. Os autores atribuíram a baixa incidência a ausência de gramíneas silvestres apresentando sintomas dessas viroses, as quais poderiam constituir fonte de inóculo para o milho.

Entre as medidas recomendadas para controle do mosaico comum do milho destacam-se a utilização de cultivares resistentes e a eliminação de fontes de inóculo, proporcionadas pela presença de gramíneas infectadas na área de plantio de milho (Shurtleff, 1986; Fernandes; Oliveira, 1997).

Os sintomas de plantas doentes no campo em geral são inadequados para dar uma identificação positiva, particularmente quando vários vírus causam sintomas semelhantes. Entretanto, algumas espécies ou cultivares de plantas produzem sintomas característicos e consistentes quando inoculados em casa-de-vegetação. É neste contexto que destaca-se o teste de gama de hospedeiros como de relevante importância, pois este consiste na inoculação de uma série de plantas (plantas indicadoras) e na observação dos sintomas induzidos ou não pelo vírus em cada espécie, auxiliando então na diagnose a qual é feita com base na comparação dos sintomas observados com aqueles relatados na literatura, tornando-se portanto, às vezes, um critério fundamental. (Matthews, 1991).

De modo geral o teste proporciona resultados preciosos e seu custo é reduzido, entretanto, possui algumas limitações. Algumas das desvantagens na utilização destes métodos são os fatos deles serem trabalhosos, demorados e demandarem espaço físico e mão-de-obra (Matthews, 1991). Além disto a detecção pode ser dificultada por características do vírus em estudo. Por exemplo, em geral os sintomas do mosaico comum do milho, como já citado, são mais claramente visíveis em plantas jovens, sendo que algumas cultivares de milho infetadas podem recuperar dos sintomas, dificultando a diagnose da doença (Shurtleff, 1986).

No Brasil, Almeida et al. (2000) purificaram as partículas do vírus obtido a partir de folhas de milho coletadas na área experimental da EMBRAPA-Milho, Sete Lagoas (MG), e produziram antisoro-policlonal, purificaram as IgGs (imunoglobulinas que atuam como anticorpos) e as utilizaram para a realização do teste dot-Elisa. Estes autores também realizaram a clonagem e seqüenciamento de fragmentos do genoma deste isolado viral e utilizaram o fragmento em teste de hibridização de ácido nucléico dot-blot. Além disto eles avaliaram e amplificaram de fragmentos do genoma viral utilizando oligonucleotídeos (“primers”) degenerados pela técnica de RT-PCR a partir de RNA total extraído de folhas infectadas. Os autores concluíram que as três técnicas utilizadas (dot-ELISA, RT-PCR com “primers” degenerados e hibridização “dot-blot”), podem ser aplicadas para a detecção do complexo viral do mosaico comum do milho. A utilização de uma ou de outra técnica dependerá da sensibilidade desejada com a detecção.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia.

#### **3.1. Fonte do isolado viral:**

O isolado viral foi obtido pela coleta de folhas de plantas de milho (*Zea mays* L) com sintomas de mosaico no município de Itumbiara, Sul de Goiás e inoculado em plantas de milho e sorgo conforme descrito no item a seguir (3.2.1). O isolado viral recebeu a denominação de “GO-01” e vem sendo mantido *in vivo* em plantas de sorgo desde setembro de 2002, na casa-de-vegetação da UFU, pelo método de inoculação mecânica (item 3.2.1). O isolado original também foi dessecado e armazenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## **3.2. Preservação dos isolados virais**

### **3.2.1. Manutenção “*in vivo*” dos isolados**

As partículas de vírus presente em folhas de sorgo com sintomas de mosaico pela infecção com o isolado GO-01 foram inoculadas periodicamente, a cada 4 a 6 meses, via extrato vegetal tamponado, em plantas de sorgo saudias, com 2 a 3 folhas. A planta de sorgo foi pré-selecionada para manutenção e multiplicação do isolado viral pela sua característica de manifestação de sintomas evidentes de infecção com este isolado viral. As folhas com sintomas de infecção viral foram maceradas em almofariz, a frio, na presença de tampão de fosfato 0,1 M, pH 7,2 contendo sulfito de sódio a 0,1 %, na proporção de 1:5 (peso/volume). A inoculação procedeu-se em folhas jovens de plântulas utilizando-se carborundum como abrasivo. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação.

### **3.2.2. Manutenção “*in vitro*” dos isolados virais**

Folhas infectadas com o isolado viral foram finamente cortadas e colocadas sobre papel-filtro, em frasco com silicagel, durante cerca de 72 horas, a 4°C. Posteriormente, os fragmentos dessecados foram acondicionados em frascos de penicilina, sobre uma camada de sílica-gel, vedados e armazenados em freezer a -20°C.

## **3.3. Avaliação da gama de hospedeiros do isolado GO-01**

A fim de determinar a gama de hospedeiros do isolado viral, bem como o tipo dos sintomas causados efetuou-se a inoculação mecânica do isolado viral GO-01 em onze espécies gramíneas, sendo três espécies cultivadas e oito infestantes. As espécies

infestantes foram: *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* (braquiária), *Braquiaria ruziziensis*, *Braquiaria plantaginea* (capim marmelada), *Cenchrus echinatus* (capim-carrapicho), *Digitaria horizontalis* (capim-colchão), *Eleusine indica* (capim-pé-de-galinha), *Sorghum halepense* (capim-massambará), que constituem-se espécies da família Poaceae, que se incluem entre as plantas daninhas mais comuns em lavouras de milho. Enquanto que as espécies cultivadas foram: *Saccharum officinarum* L. (cana-de-açúcar), *Zea mays* L. (milho) e *Sorghum bicolor* L. (sorgo granífero). O inóculo foi preparado pela maceração de folhas de sorgo com sintomas de infecção viral pelo isolado GO-01, conforme descrito no item 3.2.1.

As sementes das gramíneas infestantes de milho (*Zea mays* L), de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L.) e de capim-massambará (*Sorghum halepense*) foram cedidas pelo laboratório de sementes (Lasem) da Universidade Federal de Uberlândia. Apenas as sementes de capim massambará (*Sorghum halepense*), semeadas na 2ª época do ensaio, foram coletadas no município de Itumbiara, Sul de Goiás. A muda de cana-de-açúcar foi coletada na fazenda experimental da UFU (Fazenda do Glória) e primeiramente esteve mantida em casa de vegetação com a finalidade de constatar sua sanidade quanto a ausência de infecção viral. A sanidade da muda de cana-de-açúcar foi analisada pela inoculação de seu extrato foliar em plantas de sorgo e pela observação de seu desenvolvimento em condições de casa-de-vegetação.

As gramíneas foram semeadas em vasos plásticos em casa de vegetação, com exceção da cana-de-açúcar que após ter sua sanidade constatada foi multiplicada via propagação vegetativa (toletes), em vasos plásticos, contendo duas partes de substrato para

germinação (Plantimax<sup>®</sup>) e duas de areia lavada, uma parte de vermiculita expandida, uma de húmus de minhoca e quatro partes de terra. As plântulas foram inoculadas duas vezes, com um dia de intervalo, no estágio de 3 a 4 folhas e foram adubadas semanalmente com 0,3 a 0,5 g/vaso de torta de mamona e 1,5 g/vaso de sulfato de magnésio, e quinzenalmente com 0,5 g/vaso de adubo contendo macro e micronutrientes (15% N, 15% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 20% K<sub>2</sub>O, 1,1% Ca, 4% S, 0,4% Mg, 0,05% Zn, 0,05% B, 0,1% Fe, 0,03% Mn). Cada tratamento constitui-se por cinco a seis parcelas (vasos) e uma semana após a germinação efetuou-se o desbaste das plantas, mantendo-se 2 a 3 plantas por vaso, que então foram submetidas à inoculação com isolado viral GO-01. Para o controle experimental, as plantas de um vaso por espécie não foram inoculadas, estiveram mantidas no mesmo ambiente, e submetidas aos mesmos tratamentos culturais aplicados às demais plantas.

Todas as plantas inoculadas foram mantidas em condições de casa de vegetação, e avaliadas pela descrição dos sintomas por observação a cada 2 a 3 dias durante 30 a 60 dias.

O ensaio foi conduzido em duas épocas distintas do ano. Em cada uma determinou-se o número de plantas com presença ou ausência de sintomas de mosaico nas plantas.

Na espécie em que todas as plantas inoculadas não apresentaram sintomas da virose, algumas plantas foram selecionadas ao acaso e o macerado de suas folhas serviram como inóculo para a avaliação quanto a ocorrência de infecção viral latente. Procedeu-se inoculações em plantas jovens de sorgo suscetíveis para verificação da existência de plantas assintomáticas.

A espécie que apresentou ser suscetível pela incidência de sintomas de mosaico, destas também foram selecionadas ao acaso algumas plantas e o macerado de sua folhas com sintomas de infecção viral serviram como inóculo para a reprodução do sintoma original e para descartar a possibilidade de contaminação por uma outra virose, procedendo-se com a inoculação em plantas jovens de sorgo suscetíveis.

### **3.4. Avaliação de amostras de milho de campo**

#### **3.4.1 Obtenção de amostras de milho com sintomas de mosaico**

Amostras de milho com sintomas de mosaico foram coletadas pelo Sr. Elcio Alves em Itumbiara–GO, no primeiro semestre de 2004. As amostras foram identificadas como GO-02, GO-03, GO-04, GO-05, GO-06, GO-07, GO-08, GO-09 e GO-10. E os sintomas (Figuras 1 e 2) descritos como mosaico (GO-03, GO-04, GO-06, GO-07, GO-08, GO-10), e mosqueado (GO-02, GO-05, GO-09). Cada amostra foi inoculada em casa de vegetação, conforme descrito anteriormente para avaliar a transmissibilidade do isolado viral presente na amostra e observação de sintomas em condições de casa-de-vegetação.

**FIGURA 1:** Sintoma de mosaico do Isolado GO-10

**FIGURA 2:** Sintoma de mosqueado do Isolado GO-09

### **3.4.2 Teste de transmissão mecânica**

Os isolados GO-02, GO-03, GO-04, GO-05, GO-06, GO-07, GO-08, GO-09 e GO-10 foram submetidos ao teste de transmissão mecânica pela inoculação do macerado de folhas de milho com sintomas de infecção viral conforme descrito no item 3.2.1, em plantas jovens de milho doce suscetíveis, no estágio de 3 a 4 folhas. Todas as plantas inoculadas foram mantidas em condições de casa-de-vegetação, e avaliadas pela observação e descrição dos sintomas a cada 2 a 3 dias, até 60 dias após a inoculação.

Ao final deste período os isolados que mantiveram-se com sintomas de infecção viral nas plantas de milho doce, foram inoculados em plantas de sorgo granífero (*Sorghum bicolor*) conforme descrito no item 3.2.1 e mantidos em casa-de-vegetação.

### 3.5. Análise sorológica dos isolados virais

Amostras de folhas de cana-de-açúcar apresentando sintomas de mosaico, referente aos isolados GO-01 e de sorgo referentes aos isolados GO-01, GO-02, GO-06, GO-08, e GO-10 (Tabela 1), foram analisadas através de teste de ELISA-indireto.

**TABELA 1.** Caracterização das amostras analisadas no teste ELISA indireto, Uberlândia MG. 2004

Amostra	Isolado	Hospedeiro	Sintoma	Local de coleta
Am-1	GO-01	Cana de Açúcar	Mosaico	Casa-de-vegetação, UFU
Am-2	GO-01	Sorgo Granífero	Mosaico	Casa-de-vegetação, UFU
Am-3	GO-02	Sorgo Granífero	Mosaico	Casa-de-vegetação, UFU
Am-4	GO-06	Sorgo Granífero	Mosaico	Casa-de-vegetação, UFU
Am-5	GO-08	Sorgo Granífero	Mosaico	Casa-de-vegetação, UFU
Am-6	GO-10	Sorgo Granífero	Mosaico	Casa-de-vegetação, UFU
Am-7	Q4A	Milho	Mosaico	Campo agrícola – Itumbiara-GO
Am-8	27A	Milho	Mosaico	Campo agrícola – Itumbiara-GO
Testemunha	-	Sorgo Granífero	Sadio	Casa-de-vegetação, UFU

Amostras foliares com sintomas de mosaico foram coletadas nas plantas inoculadas em casa-de-vegetação, acondicionadas em saco plástico, identificadas e enviadas para análise sorológica nos laboratórios da empresa Agdia Incorporated, localizados em Elkhart, Indiana, USA ([www.agdia.com](http://www.agdia.com)), por cortesia da empresa Pioneer Sementes Ltda. As amostras foram testadas contra anticorpos específicos para fitovírus que infectam o milho e

listados a seguir: *Barley stripe mosaic virus* (BSMV, *Hordeivirus*), *Barley yellow dwarf virus* (BYDV, *Luteovirus*), *Brome mosaic virus* (BMV, *Bromovirus*), *Cucumber mosaic virus* (CMV, *Cucumovirus*), *Maize mosaic virus* (MMV, *Nucleorhabdovirus*), *Maize streak virus* (MSV, *Mastrevirus*), *Maize stripe virus* (MSpV, *Tenuivirus*), *Maize white line mosaic virus* (MWLMV), *Sugarcane mosaic virus* (SCMV, *Potyvirus*) (Brunt et al., 1996). As amostras também foram testadas contra anticorpo degenerado para Potyvirus e anticorpo específico para *Corn stunt spiroplasm*, segundo Pinto et al. (1997) um espiroplasma que infecta o milho.

## **4.RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Avaliação da gama de hospedeiros**

A inoculação do isolado viral GO-02 nas onze gramíneas testadas para avaliação da gama de hospedeiro, evidenciou que as espécies *Sorghum halepense* (capim massambará), *Brachiaria plantaginea* (capim-marmelada), *Digitaria horizontalis* (capim colchão), *Saccharum officinarum*, *Zea mays L.* e *Sorghum bicolor* mostraram-se suscetíveis apresentando incidência de sintomas de mosaico (Tabela 2). Estas gramíneas podem ser reservatório do vírus do mosaico do milho, constituindo-se fontes de inóculo para a cultura implantada e portanto dificultando o controle da doença em condições de campo.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados de infecção das gramíneas cultivadas e infestantes ao isolado viral GO-01.

**TABELA 2** – Reação de espécies gramíneas cultivadas e infestantes ao isolado viral GO-01 agente do mosaico comum do milho em Itumbiara, Sul de Goiás.

Espécie gramínea	1ª avaliação *	2ª avaliação *	Reação sintomatológica **
<i>Brachiaria brizantha</i>	0 / 15 (0)	0 / 12 (0)	SS
<i>Brachiaria decumbens</i>	0 / 15 (0)	0 / 12 (0)	SS
<i>Brachiaria plantaginea</i>	-	1 / 1 (100)	Mos
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	0 / 15 (0)	0 / 11 (0)	SS
<i>Cenchrus echinatus</i>	0 / 15 (0)	0 / 11 (0)	SS
<i>Digitaria horizontalis</i>	11 / 15 (73,3 )	1 / 1 (100)	Mos
<i>Eleusine indica</i>	0 / 15 (0)	0 / 12 (0)	SS
<i>Saccharum officinarum</i>	-	1 / 3 (33,3 )	Mos
<i>Sorghum bicolor</i>	12 / 12 (100)	12 / 12 (100)	Mos
<i>Sorghum halepense</i>	0 / 15 (0)	5 / 18 (27,8)	Mos
<i>Zea mays L</i>	-	12/ 12 (100)	Mos

Obs: \* número de plantas com sintomas / número de plantas inoculadas, entre parêntese a porcentagem (%)

\*\* SS - planta sem sintoma; Mos - sintoma de mosaico

- plantas não testadas

Os sintomas, em geral, iniciaram 10 a 15 dias após a inoculação, com a presença de um mosaico típico, muito nítido em folhas jovens, caracterizado pela presença de manchas verde-claro, que contrastam com manchas verde normal, concordando com as descrições feitas por Shurtleff (1986).

As espécies que não mostraram sintomas foram: *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* (braquiária), *Braquiaria ruziziensis*, *Cenchrus echinatus* (capim-carrapicho), e *Eleusine indica* (capim-pé-de-galinha). Nenhuma destas espécies citadas mostraram

sintomas quando o macerado de suas folhas foram inoculadas em plantas de sorgo, portanto não observou-se a presença de plantas assintomática.

Na avaliação da gama de hospedeiro do isolado GO-01 não foi observado em relação a sintomas a presença de enfezamento e/ou necrose em nenhuma das plantas de sorgo inoculadas. Já para Almeida et al. (2001) que avaliaram a reação ao vírus do mosaico comum do milho, de quatorze gramíneas da família Poacea, sendo dentre as quatro espécies avaliadas o sorgo granífero uma delas, nesta espécie algumas plantas apresentaram necroses nas folhas.

Para Almeida et al. (2001) as espécies infestantes *Cenchrus echinatus* e *Eleusine indica* foram infectadas pelo complexo viral estudado por estes autores, mas não apresentaram-se suscetíveis ao isolado GO-01.

*Saccharum officinarum* e *Sorghum halepense* (capim-massambará), mostraram-se suscetíveis ao isolado GO-01, através da ocorrência de sintomas típicos, embora o aparecimento destes na cana-de-açúcar tenha sido mais demorado em relação às outras espécies também suscetíveis. No entanto para, Almeida et al. (2001), dentre as espécies que não mostraram sintomas foliares de mosaico característicos encontram-se a cana-de-açúcar, e o capim massambará.

Esta diferença pode indicar a existência de variabilidade genética viral, entretanto os resultados são insuficientes para descartar a hipótese de tratar-se de espécies diferentes.

As espécies *Sorghum halepense*, *Brachiaria plantaginea*, *Digitaria horizontalis*, *Saccharum officinarum* e *Zea mays* L apresentaram-se suscetíveis em relação ao isolado GO-01 mostrando sintomas de infecção viral. Do macerado de sua folhas efetuou-se a inoculação em plantas jovens de sorgo para reprodução e certificação dos sintomas surgidos nestas plantas teste. Observou-se que as plantas de sorgo após inoculação apresentaram sintomas característicos da virose.

Além do milho e do sorgo, as espécie selvagens capim-marmelada, capim colchão e capim massambará destacaram-se pela alta susceptibilidade ao isolado GO-01, apresentando plantas com sintomas de mosaico com maior severidade. O conhecimento deste fator para Almeida et al., 2001 permite a recomendação de medidas de controle para essa virose, pela eliminação de fontes de inóculo proporcionadas pela presença de plantas infestantes apresentando sintomas de mosaico, possivelmente presentes nas áreas destinadas ao plantio de milho.

#### **4.2. Avaliação de amostras de milho com sintomas de mosaico comum**

Na Tabela 3 encontram-se os resultados do teste de transmissão mecânica dos nove isolados virais de campo, inoculados em plantas de milho doce, com seus respectivos sintomas. Após 10-14 dias da inoculação, as plantas de milho inoculadas com os isolados GO-02, GO-03, GO-06, GO-07, GO-08, GO-10 apresentaram sintomas da doença.

**TABELA 3** – Resultado do teste de transmissão mecânica de vírus presente em amostras de milho com sintoma de mosaico, coletadas em Itumbiara GO, em abril de 2004, e os sintomas causados pelo isolado viral na planta teste inoculada.

Isolado viral	34 d.a.i.		60 d.a.i	
	Transmissão mecânica	Sintoma	Transmissão mecânica	Sintoma
GO-02	1/6 (16,67)	Mosaico	1/6 (16,7)	Mosaico
GO-03	1/6 (16,67)	Mosaico	0/6 (0)	-
GO-04	0/6 (0)	-	0/6 (0)	-
GO-05	0/6 (0)	-	0/6 (0)	-
GO-06	4/6 (66,67)	Mosaico	4/6 (66,67)	Mosaico
GO-07	1/6 (16,67)	Mosaico	0/6 (0)	-
GO-08	2/6 (33,33)	Mosaico	2/6 (33,33)	Mosaico
GO-09	0/4 (0)	-	0/4 (0)	-
GO-10	4/6 (66,67)	Mosaico	4/6 (66,67)	Mosaico

Obs: \* número de plantas com sintomas / número de plantas inoculadas, entre parêntese a porcentagem (%) (d.a.i.) – dias após a inoculação

- sem sintomas

As plantas de milho teste inoculadas com os isolados GO-04, GO-05 e GO-09 não apresentaram sintomas de infecção viral. Este fato leva a duas prováveis causas: isolados virais não possuem a característica de serem transmitidos mecanicamente ou porque a eficiência da transmissão mecânica destes vírus é muito baixa e o número de plantas testadas não foram suficientes para a transmissão, uma vez que esta ocorre ao acaso.

Os sintomas de infecção viral nas plantas de milho inoculadas com GO-03 e GO-07 desapareceram com o desenvolvimento das plantas. Segundo Shurtleff, (1986) em geral os sintomas do mosaico comum do milho, como já citado, são mais claramente visíveis em

plantas jovens, sendo que algumas cultivares de milho infetadas podem se recuperar dos sintomas, dificultando a diagnose da doença. Destacando-se, portanto, o acompanhamento mais cauteloso possível e assíduo para observação dos sintomas.

#### **4.3. Análise sorológica pelo teste ELISA-indireto**

A Tabela 04 apresenta os resultados da análise sorológica de amostras com sintomas de infecção por vírus causando mosaico em milho. Através do teste ELISA-indireto, os isolados virais GO-01; GO-02; GO-06; GO-08; GO-10; Q4A e 27A não reagiram com anticorpo específico para os vírus BSMV, BYDV, BMV, CMV, MMV, MSV, MSpV, MWLMV, e SCMV, indicando que as amostras não estavam infectadas por nenhum destes vírus. As amostras também não reagiram com anticorpo específico para Corn stunt spiroplasm, indicando que os sintomas não eram causados por espiroplasma. Entretanto, ocorreu a reação do vírus presente nas amostras com sintomas de infecção viral com o anticorpo degenerado para Potyvirus e não houve reação com a amostra de sorgo sadia. Estes últimos resultados indicam a presença de potyvirus nas amostras de folha apresentando sintomas típicos de mosaico e mosqueado. Portanto, indicam também que as amostras de milho com sintoma de mosaico proveniente do município de Itumbiara estavam infectadas por vírus pertencente ao gênero Potyvirus. Observa-se assim, que a virose encontra-se presente na região de Itumbiara-GO, concordando com os resultados obtidos Almeida et al. (2001) que analisaram amostras de folhas milho com sintomas de mosaico, provenientes das regiões de Góias, São Paulo, Minas Gerais e Distrito Federal, cuja presença de potyvirus foi confirmada, pelo teste de dot-Elisa, observando que a virose encontra-se disseminada em importantes regiões produtoras de milho.

**TABELA 4:** Resultados do teste de ELISA-indireto no laboratório da empresa Agdia Incorporated, Indiana, USA (www.agdia.com), Julho 2004, (cortesia Pioneer Sementes Ltda).

Amostra	Isolado viral	Hospedeiro	Sintoma	Espécie Viral										Gênero			
				BSMV	BYDV	BMV	CMV	MMV	MSV	MSPV	MWLMV	SCMV	Potyvirus	Css			
Am-1	GO-01	Cana de Açúcar	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-2	GO-01	Sorgo Granífero	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-3	GO-02	Sorgo Granífero	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-4	GO-06	Sorgo Granífero	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-5	GO-08	Sorgo Granífero	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-6	GO-10	Sorgo Granífero	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-7	Q4A	Milho	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-8	27A	Milho	Mosaico	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Am-9		Sorgo Granífero	Sadio	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Controle Positivo				(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

  

Sigla	Espécie viral	Família	Gênero
BSMV -	<i>Barley stripe mosaic virus</i>		<i>Hordeovirus</i>
BYDV -	<i>Barley yellow dwarf virus</i>	<i>Luteoviridae</i>	<i>Luteovirus</i>
BMV -	<i>Brome mosaic virus</i>	<i>Bromoviridae</i>	<i>Bromovirus</i>
CMV	<i>Cucumber mosaic virus</i>	<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>
MMV -	<i>Maize mosaic virus</i>	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Nucleorhabdovirus</i>
MSV -	<i>Maize streak virus</i>	<i>Geminiviridae</i>	<i>Mastrevirus</i>
MSPV -	<i>Maize white line mosaic virus</i>		<i>Tenuvirus</i>
MWLMV -	<i>Sugarcane mosaic virus</i>		ungrouped.
SCMV -		<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>
Sigla	<b>Espiroplasma</b>		
Css -	Com stunt Spiroplasma		

(-) reação negativa, o anticorpo não detectou a presença do respectivo antígeno  
(+) reação positiva, o anticorpo detectou a presença do respectivo antígeno

## 5. CONCLUSÃO

Dentre as gramíneas avaliadas pelo teste de gama de hospedeiro as espécies *Digitaria horizontalis*, *Brachiaria plantaginea*, *Sorghum halepense*, *Sorghum bicolor*, *Saccharum officinarum* e *Zea mays* L. mostraram-se suscetíveis ao isolado GO-01 pela presença de sintomas evidentes de infecção viral.

As espécies *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis*, *Cenchrus echinatus* e *Eleusine indica* não foram suscetíveis ao isolado GO-01. Ainda em relação a essas gramíneas ficou comprovada a não existência de plantas assintomáticas.

No teste de transmissão mecânica através da técnica de EVT (extrato vegetal tamponado), os isolados virais coletados no campo identificadas como GO-02, GO-03, GO-06, GO-07, GO-08 e GO-10 apresentaram-se mecanicamente transmissíveis. Os isolados GO-04, GO-05 e GO-09 não apresentaram como transmitidos mecanicamente.

Os isolados virais GO-01, GO-02, GO-06, GO-08 e GO-09 pertencem ao gênero Potyvirus. No entanto, estes isolados não reagiram com anticorpo do *Sugarcane mosaic virus* (SCMV).

As espécies de gramíneas selvagens *Digitaria horizontalis*, *Brachiaria plantaginea*, *Sorghum halepense* podem ser fonte de inóculo para o vírus do mosaico do milho.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.C.L. **Detecção, caracterização e aspectos epidemiológicos do complexo viral do mosaico comum do milho (*Zea mays* L.)**. (Tese de Mestrado). Brasília. Universidade de Brasília. 1998.

ALMEIDA, A.C.L.; OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. Detecção de Vírus por RT-PCR, Hibridização “Dot-blot” e Dot-ELISA em Milho com Mosaico Comum. **Fitopatologia Brasileira** vol 25, n. 2, pg 168-174, 2000.

ALMEIDA, A.C.L.; OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. Fatores Relacionados à Incidência e Disseminação do Vírus do Mosaico Comum do Milho. **Fitopatologia Brasileira** vol 26, n. 4, pg 766-769, 2001.

BRUNT, A.A., CRABTREE, K., DALLWITZ, M.J., GIBBS, A.J., WATSON, L. and ZURCHE, E.J. (eds.) (1996 onwards). **Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database**. Version: 20<sup>th</sup> August 1996.' URL. Capturado em 27 de Out.2004. Online. Disponível na Internet: <http://biology.anu.edu.au/Groups/MÉS/vide/>.

COSTA, A.S., KITAJIMA, E.W.; ARRUDA S.C. Moléstias de vírus e de micoplasma do milho em São Paulo. **Fitopatologia Brasileira** 4:39-41. 1971.

DOUGHERTY, W.G.; CARRINGTON, J.C. Expression and Function of Potyviral Gene Products. **Annual Review of Phytopathology**, vol. 26, pg 123-140, 1988.

DUDIENAS, C., DUARTE, A.P.,PATERNIANI, M.E.A.G.Z, RIBEIRO. J.L., BIANCHINI, M.T., KANTHACH, R.AD., CASTRO, J.L., SILVEIRA,L.C.P.,DENUCCI, S., JUNIOR,J.S., BOLONHESI, D.; DESORDI, G. Severidade de doenças no milho “safrinha” no Estado de São Paulo em 1996. **Seminário sobre a cultura do milho “safrinha”**, 4., IAC/CDV.1997.pp.107-115.

EDWARDSON, J.R.; CHRISTIE, R.G. The potyvirus group. Volumes 1-4, **Florida Agricultural Experiment Station, Monograph** 16, 1991.

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. Principais doenças na cultura do milho. **EMBRAPA-CNPMS, Sete Lagoas – MG. Circular técnica**, n.26. 1997.

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. **Principais Doenças na Cultura do Milho**. Sete Lagoas, EMBRAPA-CNPMS, 2000. 80 p (Circular técnica, 26).

HARI, V. The RNA of *Tobacco etch virus*: Further Characterization and Detection of Protein Linked to RNA. **Virology** vol. 112, pg. 391-399, 1981.

HOLLINGS, M.; BRUNT, A.A. Potyvirus group. **CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses**, nº 245, 1981.

KOIKE, H.; GILLASPIE, A.G. Mosaic. In: Ricaud, C.(Ed.) **Diseases of Sugarcane Major Diseases**. Amsterdam. Elsevier Science publishers. 1989. pp.301-302.

MATHEWS, R.E.F. **Plant virology**. Academic press, New York, 3rd ed. 1991. 997 p.

OLIVEIRA, E.; RESENDE, R.O.; PECCI, M.P.G.; LAGUNA, HERRERA, P., e CRUZ, Incidência de viroses e enfezamentos e estimativa 1999. I.I.G., Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 38, n. 1, p. 19-25, jan. 2003

PEREIRA, O.A.P. Doenças do Milho (*Zea mays* L.). IN: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN, A.; CAMARGO, L.E.A. e REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Vol. 2 Doenças de Plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres. 1997. 774 pg.

PINTO, N.F.J.A.; FERNANDES, F.T. e OLIVEIRA E. Milho (*Zea mays* L.): controle de Doenças. IN: VALE, F.X.R. e ZAMBOLIM, L. **Controle de Doenças de Plantas: grandes culturas**. Viçosa, MG: UFV, Departamento Fitopatologia ; Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1997. 2v. 1131 pg.

PIRONE, T.P. Sugarcane mosaic virus. No.88. In: **CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses**, Kew, Surrey, England, 1972.

SHUKA, D.D; FRENKEL, M.J.; WARD, C.W. Structure and Function of Potyvirus Genome with Special Reference to the Coat Protein Coding Region. **Canadian Journal of Plant Pathology**, vol. 13, pg 178-191, 1991

SHUKLA, D.D; TOSIC, M.; JILKA, J.; FORD, R.E.; TOLER, R.W.; LANGAHAM, M.A.C. Taxonomy of Potyviruses Infecting Maize, Sorghum and Sugarcane in Australia and United States as Determined by Reactivities of Polyclonal Antibodies Directed Towards Virus-specific N-termini of Coat Proteins. **Phytopathology**, vol. 79, pg 223-229, 1989.

SHURTLEFF, M.C. Compendium of corn diseases. 2<sup>nd</sup> ed. Saint Paul. **American Phytopathological society**. 1986.

SILVA, D.F. Biocombustíveis e produção animal impulsionaram a cultura. IN: **AGRIANUAL – Anuário da Agricultura Brasileira**. 2004. FNP Consultoria & agroInformativos. São Paulo. Pg 373-374.

TAVARES, C.E.C. **Análise prospectiva do mercado de milho - Safra - 2004/05**. Capturado em 27 de Outubro. 2004. Disponível na Internet: <http://www.conab.gov.br/download/cas/especiais/Perspectivas%20para%20o%20Mercado%20de%20Milho%202004%20e%202005.pdf>.

WAQUIL, J.M., OLIVEIRA, E., PINTO, N. F. J.A. , FERNANDES. F. T.; CORREIA, L.A. Viroses em milho, incidência e efeito na produção. **Fitopatologia Brasileira** 21:460-463. 1996.

