

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

FERNANDA VITORINO GOMES

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO AO VÍRUS DO MOSAICO COMUM
(ISOLADO GO-01)**

**Uberlândia – MG
Dezembro - 2007**

FERNANDA VITORINO GOMES

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO AO VÍRUS DO MOSAICO COMUM
(ISOLADO GO-01)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Agronomia,
da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Jonas Jagër Fernandes

**Uberlândia – MG
Dezembro - 2007**

FERNANDA VITORINO GOMES

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO AO VÍRUS DO MOSAICO COMUM
(ISOLADO GO-01)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Agronomia,
da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 05 de dezembro de 2007

Prof. Dr. Jonas Jagër Fernandes
Orientador

Prof. Lísias Coelho, Ph.D.
Membro da Banca

Prof^a. Dra. Maria Amelia dos Santos
Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

À Deus por abençoar e iluminar o meu caminho e por colocar em minha vida pessoas que me fortalecem nos momentos mais difíceis.

Ao professor Dr. Jonas Jagër Fernandes, que foi durante todo o tempo um excelente orientador a quem observei atentamente e enxerguei, além de um professor e pesquisador, uma pessoa solícita e de um enorme respeito e cuidado com todos. Muito obrigada pelo cuidado e atenção e por tantos e todos os ensinamentos.

Ao professor Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães, o meu agradecimento, pela presteza, boa vontade e por sua participação, tão importante, na realização deste trabalho.

À minha mãe e ao meu pai que são o alicerce de tudo que sou. Por me darem tanto amparo e coragem nas horas em que não sabia para onde ir e por me apoiarem sempre.

Às minhas amigas de coração Cintia, Jú, Kátia, Lú, Natália e Samantha por estarem sempre comigo, se não, o tempo todo com a presença, com a certeza de que sempre poderei contar com todas vocês.

À Dri, minha prima, com quem pude contar sempre, com sua atenção, me ajudando nos momentos mais críticos quando o computador cismava em não colaborar.

Aos amigos da graduação, tão sumidos, Rafa, Cinara, Paloma, Patrícia, Daniel, Murilo e Thiago por fazerem parte das lembranças mais gostosas que tenho dessa época de faculdade.

À todos os professores do Curso de Agronomia da UFU, pelo empenho em compartilhar os seus conhecimentos, base fundamental da minha formação.

Aos funcionários do LAFIP, sempre tão solícitos, Roberto, Sr. Antônio.

Aos membros da banca por aceitarem participar desta minha conquista.

RESUMO

Objetivando avaliar a reação de genótipos de milho ao vírus do mosaico comum do milho (Isolado GO-01), foi instalado um experimento em casa de vegetação, na Universidade Federal de Uberlândia. O ensaio foi instalado com quatro repetições ao tempo, em épocas distintas, e em cada época foram feitas avaliações da porcentagem de plantas com a presença de sintomas de mosaico. Foram utilizados 18 genótipos de milho, recomendados para a região do Triângulo Mineiro e Sul de Goiás na safra 2004/2005 e o sorgo, totalizando 19 tratamentos. O ensaio foi realizado utilizando o isolado viral GO-01 mantido *in vivo* em plantas de milho doce, cultivadas em vaso na casa de vegetação. A inoculação foi mecânica via extrato vegetal tamponado (EVT). Cada planta inoculada foi avaliada quanto à presença ou ausência de sintomas de mosaico, aos 15 e 30 dias após a inoculação. Os resultados obtidos indicaram que dentre os genótipos avaliados os híbridos de milho 3027; 3021; ISLA508; 30F98; 30F88; 30F33 e o sorgo apresentaram incidência de sintomas de mosaico superior a 50%. Os genótipos AG1051, GNZ2728, 30F44, 3041 e 30F87 apresentaram incidência entre 20 e 50%. Apenas os cultivares 30P70, C435, 30F80 e 30F90; 30S40; BR106 e o Milho Doce apresentaram incidência de plantas com mosaico inferior a 20%.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1 O mosaico comum do milho.....	8
2.2 Agente causal do mosaico comum do milho.....	10
2.3 Métodos de inoculação.....	12
2.4 Métodos de detecção do vírus.....	13
2.5 Efeito do ambiente na infecção viral.....	14
2.6 Métodos de controle do mosaico comum do milho.....	15
2.7 Genética da resistência ao mosaico comum do milho.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Isolado Viral.....	18
3.2 Multiplicação e manutenção “in vivo” do isolado viral.....	18
3.3 Germoplasma avaliado.....	18
3.4 Substrato para germinação.....	19
3.5 Inoculação do germoplasma e avaliação da infecção viral.....	19
3.6 Tratos culturais e acompanhamento da temperatura do ar.....	19
3.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5 CONCLUSÕES.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O milho vem sendo utilizado tradicionalmente como fonte energética na alimentação humana e animal representando 70% da demanda mundial. Seu uso também se ampliou para a industrialização (produção de amido, álcool, adoçantes, óleos, etc.) e os Estados Unidos para este fim deverão absorver mais que a sua produção da safra 2003/04, segundo dados de seu Departamento de Agricultura (USDA) (SILVA, 2004).

O avanço obtido na área plantada mundial, entre 1991 e 2001, foi apenas de 5%, alcançando 138 milhões de hectares, de acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). No mesmo período a produção mundial cresceu aproximadamente 26%. Houve, pois, forte ganho de produtividade de 20%, devido à maior aplicação de fertilizantes e aos progressos no melhoramento genético (SILVA, 2004).

Em 2005/06 a produção mundial foi estimada em aproximadamente 668 milhões de toneladas (Instituto FNP-Agosto2005). Os principais produtores de milho na primeira safra (2005/2006) foram EUA, China, União Européia e Brasil, com 274, 127, 48 e 44 milhões de toneladas, respectivamente. A mesma ordem de duas décadas atrás e, segundo as previsões do USDA/FNP, a mesma da próxima década (SILVA, 2004).

A produção de milho no Brasil safra 2004/05, foi de 35 milhões de toneladas e a área de cultivada, em 12.025.700 hectares. Embora essa produção seja distribuída em todas as regiões do País, ela se concentra nas regiões Sudeste (33,1%), Sul (45,5%) e Centro-Oeste (9,7%). A produção da safrinha foi estimada, em 2005, em 7.704.500 toneladas, correspondendo a 22% da produção total de milho do Brasil, para uma área plantada de 3.000.000 hectares (AGRIANUAL 2006).

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 inóculo de patógenos, bem como a sobrevivência de insetos vetores, e assim aumenta grandemente a incidência e a severidade de muitas doenças (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000).

A literatura brasileira destaca a doença denominada risca e o mosaico comum como viroses limitantes a produção de milho (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000; PEREIRA, 1997;

PINTO et al., 1997). No Brasil, Waquil et al. (1996) observaram a ocorrência principalmente de rayado fino e de mosaico comum, causando perdas, respectivamente, de 28,64 e 47,50% no peso dos grãos. Estes autores notaram a variação de 0 a 100% na incidência dessas viroses nos híbridos comerciais de milho. Em condições brasileiras existem relatos da ocorrência do *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Maize rayado fino virus* (MRFV) e do *Maize mosaic virus* (MMV) (COSTA et al. 1971; KITAJIMA, 1979).

O mosaico comum do milho (*Zea mays L.*) tem sido encontrado 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 associado a outras viroses seus efeitos podem ser mais drásticos (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000).

Na década de noventa o mosaico comum do milho destacou-se como uma das 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). A importância econômica do mosaico intensificou-se com a expansão da área cultivada com o milho safrinha (semeado em fevereiro/março) e com a adoção da irrigação, que reduziu a sazonalidade do plantio e sobrepôs ciclos da planta no campo, culminando com a perpetuação de pragas e patógenos no agrossistema (WAQUIL et al., 1996).

Diante da severidade e da disseminação dessa doença, estudos visando selecionar material que apresente resistência são de grande importância. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou avaliar a reação de genótipos de milho quanto ao vírus da mesma espécie do isolado viral GO-01.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O mosaico comum do milho

A virose do mosaico comum do milho foi descrita pela primeira vez em 1965 ocasionando perdas consideráveis na produção em diversas províncias do Estado de Ohio, EUA. Atualmente a doença se encontra distribuída mundialmente, em regiões temperadas e tropicais (ALMEIDA et al., 2001; WAQUIL et al., 1996).

No Brasil, a virose foi inicialmente descrita por Costa et al. (1971) como sendo causada por estirpes do *Sugarcane mosaic virus* (SCMV). Avaliações do efeito dessa virose sobre a produção de cultivar suscetível mostram redução da ordem de 50% no peso dos grãos (PINTO et al., 1997).

Essa 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.

Os sintomas foliares do mosaico caracterizam-se pela presença de manchas verde-claro, que contrastam com manchas verde normal e, ocasionalmente, enfezamento e necrose (PIRONE, 1972). Os sintomas aparecem primeiro nas folhas mais jovens como um mosaico ou mosqueado irregular de coloração verde-claro a escuro. No entanto, podem desenvolver-se para faixas estreitas ao longo das nervuras, que aparecem como ilhas de verde-escuro em um fundo clorótico. Por outro lado, em determinadas cultivares, as plantas podem tornar-se verde-amareladas. Plantas com esses sintomas freqüentemente apresentam perfilhamento excessivo, proliferação de espigas em um mesmo nó ou em vários nós, e pouca produção de sementes (SHURTLEFF, 1986).

A infecção em estágios iniciais de crescimento causa redução na altura da planta e no desenvolvimento da espiga. Neste último os prejuízos são no peso, comprimento, diâmetro e número de grãos na base da espiga. Além desses, pode-se atribuir também, atraso na maturação das sementes (GREGORY; AYERS, 1982). Por outro lado, segundo Balmer (1980) em plantas mais velhas os sintomas são menos visíveis, podendo passar despercebidos.

A virose do mosaico comum do milho tem sido encontrada em alta incidência em várias regiões produtoras desse cereal no Brasil (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000). Essa doença 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, 1999). Segundo esse autor, ela pode ser encontrada com frequência ocorrendo simultaneamente com enfezamentos causados por fitoplasma e espiroplasma e com outras viroses como a risca (MRFV – *Maize rayado fino virus*), o que dificulta a distinção dos sintomas no campo, bem como a diagnose dessas isoladamente.

De acordo com Almeida et al. (2001) e Waquil et al. (1996), o emprego de híbridos de milho susceptíveis e a presença de plantas hospedeiras têm contribuído para maior incidência da doença, culminando em sérios prejuízos à produção. A maior proliferação do vírus ocorre nos meses de dezembro e janeiro, coincidindo com altos índices de precipitação pluviométrica e a temperaturas mais elevadas, o que favorece também, o desenvolvimento de afídeos vetores. Além disso, nessa época do ano há abundância de gramíneas hospedeiras, dificultando as medidas de controle.

Em Sete Lagoas (MG), Waquil et al. (1996) verificaram maior incidência de SCMV em híbridos comerciais de milho na semeadura de dezembro, em relação à de outubro, e atribuíram este fato ao alto potencial de inóculo do vírus, nas proximidades do ensaio, proporcionado pela presença de grande quantidade de capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*), apresentando sintomas da doença.

Amostras de folhas de milho apresentando sintomas de mosaico, provenientes de diversos municípios localizados em regiões produtoras de São Paulo (Vale do Paranapanema e Alta Mogiana), Minas Gerais, Goiás (Santa Helena de Goiás) e Distrito Federal, foram analisadas através de teste sorológico para verificar a presença de potyvírus. Através do teste dot-ELISA, a presença de potyvirus foi confirmada, provando que a doença encontra-se disseminada em importantes regiões de cultivo de milho (ALMEIDA et al., 2001).

Nessa linha de pesquisa, Oliveira et al. (1996) avaliaram a incidência de viroses em 24 lavouras de milho no Paraná e verificaram que todas as plantas com sintomas do *Maize dwarf mosaic virus* e do *Maize rayado fino virus* apresentavam a infecção por estes vírus, com incidência inferior a 0,66%. Esses autores atribuíram a baixa incidência, à ausência de gramíneas silvestres apresentando sintomas dessas viroses, as quais poderiam constituir fonte de inóculo para o milho.

2.2 Agente causal do mosaico comum do milho

O mosaico comum do milho é causado por um complexo viral que infecta o milho e cujas espécies pertencem à família Potyviridae, gênero Potyvirus. Tradicionalmente, estirpes originadas em cana-de-açúcar foram designadas como estirpes do *Sugarcane mosaic virus*, SCMV, e aquelas originadas em milho como estirpes de *Maize dwarf mosaic virus*, MDMV (SHUKLA et al., 1989).

O SCMV pertence ao gênero *Potyvirus* e forma partículas alongadas, com cerca de 750 µm de comprimento e 13 µm de diâmetro (PINTO et al., 1997). Recentemente, Shukla et al. (1989) compararam 17 estirpes de SCMV e MDMV da Austrália e dos EUA, utilizando anticorpos policlonais vírus-específico direcionados para a região N-terminal da capa protéica. Com base no padrão de reatividade desses anticorpos, foi possível agrupar as estirpes em quatro espécies de potyvirus diferentes: *Johnsongrass mosaic virus*, MDMV, SCMV e *Sorghum mosaic virus*. Como os estudos foram realizados em algumas estirpes da Austrália e dos EUA, existem ainda um número considerado de estirpes de MDMV e SCMV de diversos países, incluindo as americanas, que necessitam ser devidamente caracterizadas. Todos esses vírus e suas estirpes constituem um complexo viral que infeta o milho, causando sintomas de mosaico (DOUGHERTY; CARRINGTON, 1988; HARI, 1981; HOLLINGS; BRUNT, 1981; SHUKLA et al., 1989; SHUKLA et al., 1991).

Entre as estirpes desse complexo viral, Fuchs e Gruntzig (1995) verificaram que *Sugarcane mosaic virus*, SCMV e *Maize dwarf mosaic virus*, MDMV, são as mais importantes potyviroses que causam perdas significativas na produção de grãos e forragem em genótipos de milho susceptíveis.

Na natureza, mais de 20 espécies de afídeos são vetores dos vírus que causam o mosaico comum do milho. Eles adquirem os vírus em poucos segundos ou minutos, quando se alimentam em uma planta infectada e também, com rapidez, transmitem o vírus adquirido a uma planta sadia. Essa transmissão é do tipo não persistente, e o período de tempo em que os afídeos retêm e transmitem os vírus após a aquisição, pode variar de poucos minutos a várias horas. Aparentemente, há pouca especificidade na transmissão desses vírus, sendo conhecidas espécies de afídeos vetores em três subfamílias diferentes. Contudo, as espécies *Rhopalosiphum maidis*, *Schizaphis graminum* e *Myzus persicae* são vetores muito eficientes (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000; PIRONE, 1972). Nas condições brasileiras, predomina o *Rhopalosiphum maidis* (WAQUIL et al., 1996).

No Brasil, amostras de folhas com sintomas de mosaico, oriundas de diversas regiões produtoras de milho foram utilizadas por Almeida et al. (2000), para a caracterização molecular das estirpes. Pela comparação das seqüências de um fragmento de 5,0 pb da capa protéica do vírus ampliado pela técnica de RT-PCR, foi detectada a maior similaridade com o MDMV-B (86,3%), seguido do SCMV (81,8%). Para o *Sorghum mosaic virus* (SrMV) e *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV), os valores foram 77,1% e 70,2%, respectivamente. Entretanto, o mosaico comum do milho não tem sido extensivamente estudado quanto à existência de estirpes e diferenciação nesses potyvirus (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000; PINTO et al., 1997). A análise da porcentagem de similaridade das seqüências de nucleotídeos entre o clone do fragmento de 335,0 pb obtidos de um isolado de Sete Lagoas (MG) e os quatro potyvirus que causam o mosaico, mostrou maior valor para o MDMV-B (86,3%) seguido do SCMV (81,8%). Para o SrMV e JGMV os valores foram 77,1% e 70,2%, respectivamente (ALMEIDA et al., 2000). Além disso, deve-se considerar a grande variabilidade dos vírus componentes do complexo viral do mosaico comum, o que sugere a necessidade de mais estudos com relação à distribuição e predominância desses potyvirus, visando ao desenvolvimento de cultivares resistentes (ALMEIDA et al., 2001).

Em estudos realizados por Melo (2000), foram também empregadas amostras de folhas de milho sintomáticas, coletadas em diferentes regiões produtoras brasileiras. A partir do RNA total dessas amostras e utilizando primers específicos para as quatro estirpes do complexo viral, foi possível amplificar um fragmento de 1.072 pb em uma das amostras. Através da utilização desse fragmento como sonda, foi possível verificar que a referida estirpe estava presente em 91,9% das amostras analisadas, evidenciando a predominância do MDMV-B, bem como a sua alta disseminação entre as regiões produtoras de milho no Brasil. Apesar de apresentarem sintomas típicos da doença, 8,0% das amostras testadas não hibridizaram com a sonda de DNA, sugerindo, provavelmente, a presença de outras estirpes e/ou espécies componentes do complexo viral do mosaico-comum-do-milho.

A ampla disseminação desse complexo viral se deve, também, a extensa gama de plantas passíveis de hospedar o vírus. Almeida et al. (2001) verificaram, com base nos sintomas apresentados e testes Dot-ELISA, utilizando anti-soro contra esse grupo viral, que os vegetais capim-braquiária, capim-carrapicho, capim-colchão, capim-pé-de-galinha, milho, milheto e sorgo-rio são plantas hospedeiras.

2.3 Métodos de inoculação

Os fitovírus com melhor caracterização são aqueles facilmente transmitidos mecanicamente (YARWOOD, 1957). Por isso, qualquer método que permite a transmissão de vírus que antes não era transmitido mecanicamente é de grande interesse. As primeiras tentativas para transmitir fitovírus utilizaram métodos usados por médicos ou que imitavam a picada de prova dos insetos. Certamente, a transmissão mecânica por atrito é o método mais utilizado para transmissão de fitovírus. De acordo com Rawlins e Tompkins (1936), provavelmente esse método foi utilizado pela primeira vez por Reddick e Stewart em 1919, e posteriormente, sua eficiência foi aumentada pela adição de carboneto de silício (SiC) ao inóculo.

Posteriormente, surgiram métodos que aumentaram a eficiência da transmissão mecânica envolveram equipamentos mais sofisticados, tais como, ar pressurizado (LINDNER; KIRKPATRICK, 1959), inoculador de jatos sólidos (LOUIE et al., 1983; MUMFORD, 1972), endosmose elétrica (POLSON; WECHMAR, 1980), microinoculação (KONATE; FRITIG, 1984), bombardeamento de partículas (SANFORD et al., 1987) e ferimento de embrião (ZHAMG et al., 1991).

Recentemente, foi desenvolvido um método de perfuração de sementes de milho com agulhas entomológicas, para aumentar a taxa de transmissão de *Maize white line mosaic virus* (MWLMV), sem causar injúrias letais ou teratogênicas nas plântulas desse vegetal. Esse método consiste na embebição das sementes com água por 12 a 24 horas, a 4° C, seguida pela inoculação de extrato vegetal nos vasos localizados ao lado do embrião da semente, através de perfuração com três agulhas entomológicas número zero alinhadas lado a lado. Imediatamente após a inoculação as sementes são colocadas em toalhas de papel com 50 mL de água, incubadas a 30°C durante 24 horas e, em seguida, colocadas no solo (LOUIE, 1995).

Utilizando esta metodologia, Louie (1995) testou a transmissão de nove fitovírus que infectam o milho, e observou que todas as plantas inoculadas pelo método de perfuração dos vasos apresentaram sintomas típicos de cada virose. Os sintomas de infecção com *Maize dwarf mosaic potyvirus* (MDMV), *Maize white line mosaic virus* (MWLMV) e *Wheat subtle mosaic virus* (WSMV) foram observados na primeira folha da plântula de milho inoculadas, e com *Maize chorotic dwarf waikavirus* (MCDV), *Maize mosaic rhabdovirus* (MMV), *Maize rayado fino marafivirus* (MRFV), *Maize streak geminivirus* (MSV) e *Maize subtle mosaic virus* (MSMV) na segunda ou terceira folha da plântula. Para a infecção do MRDV, os sintomas foram observados apenas em folhas acima da espiga.

O método de inoculação por perfuração vascular em grãos de milho é uma técnica efetiva para transmissão de vírus do milho sem a utilização de vetores e pode transmitir vírus a partir do extrato de folhas infectadas e de soluções de vírus purificado (LOUIE, 1995; REDINBAUGH et al., 2001). Segundo Louie et al. (2000), o método foi crítico para transmitir e caracterizar um novo vírus, o *Maize necrotic streak virus* (MNeSV), para o qual nenhum vetor tinha sido identificado. Além disto, o método também pode ser útil para inocular vírus em sementes de outros cereais, tais como trigo, cevada, arroz e soja (MADRIZ-ORDENANA et al., 2000; REDINBAUGH et al., 2001).

2.4 Métodos de detecção do vírus

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. Além disso, a gama de hospedeiros também é importante e às vezes um critério fundamental na diagnose. Algumas das desvantagens na utilização desses métodos decorre do fato de eles serem trabalhosos, demorados e demandarem espaço físico e mão-de-obra (MATTEWS, 1991).

Além do mais, a detecção pode ser dificultada por características do vírus em estudo. Por exemplo, em geral os sintomas do mosaico comum do milho são mais claramente visíveis em plantas jovens, sendo que algumas cultivares de milho infetadas podem se recuperar, 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 e Sorgo, em Sete Lagoas (MG). Eles produziram antisoro-policlonal, purificaram as IgGs e utilizaram-nas para a realização do teste dot-Elisa. Os autores também realizaram a clonagem e seqüenciamento de fragmentos do genoma desse isolado viral, e utilizaram o fragmento em teste de hibridização de ácido nucléico dot-blot. Não obstante, eles avaliaram a amplificação de fragmentos do genoma viral utilizando oligonucleotídeos (“primers”) degenerados pela técnica de RT-PCR, a partir de RNA total extraído de folhas infectadas. Eles 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, da disponibilidade de recursos econômicos e da finalidade do trabalho (ALMEIDA et al., 2000).

Almeida e et al. (2001) utilizaram a técnica de dot-ELISA para confirmar a presença de potyvirus em várias amostras de folhas de milho apresentando sintomas de mosaico, alcançando bons resultados.

Jiang e Zhou (2002), fizeram uso da técnica de RT-PCR e da análise de seqüências de nucleotídeos para confirmar que o mosaico anão do milho, na China, era causado predominantemente pelo SCMV. Em seguida, Jiang et al. (2003) produziram anticorpo monoclonal contra um isolado chinês do SCMV e detectaram o SCMV em amostras de milho em diferentes regiões daquele país.

2.5 Efeito do ambiente na infecção viral

Alterações na taxa de multiplicação e na concentração do vírus são dependentes da temperatura. Tu e Ford (1969 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) demonstraram que em milho há uma relação direta entre temperatura e concentração, incubação e infecção por MDMV. Nesse trabalho, os autores verificaram que a concentração do vírus na seiva da planta foi aumentada diretamente com o aumento da temperatura, assim como também, notaram que a percentagem de plantas de milho infectadas foi maior nas temperaturas mais elevadas de pré e de pós-inoculação. Além disso, observaram que, em temperaturas de incubação de 26,5°C, 21,0°C e 15,5°C, os sintomas apareceram na planta infectada após 3, 4 e 9 dias, respectivamente.

Kovács et al. (1996 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) utilizaram em seus estudos genótipos de milho inoculados com *Maize dwarf mosaic virus* estirpe A (MDMV-A) e *Sugarcane mosaic virus* estirpes A e MB (SCMV-A e MB). Os autores verificaram que quando as plantas infectadas foram mantidas a temperatura de 10,0°C, 14,0°C e 28,0°C, os períodos de incubação foram de 13,7, 13,1, e 9,0 dias e a incidência média da doença de 34%, 35% e 66%, respectivamente.

Além disso, Kovács et al. (1996 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) verificaram também que, independente da estirpe do vírus e dos genótipos de milho, a maior incidência da doença ocorreu sob temperaturas mais elevadas (28,0°C). Baixas temperaturas afetaram, em diferentes graus, a patogenicidade das três estirpes, manifestada pelo

comprimento do período de incubação e da porcentagem de plantas doentes. O SCMV-MB mostrou-se menos suscetível a baixas temperaturas do que o MDMV-A e o SCMV-A.

2.6 Métodos de controle do mosaico comum do milho

A maioria das doenças causadas por vírus e transmitida por insetos está se tornando um problema sério, em razão da agricultura intensiva do milho. Nesse sentido, Almeida et al. (2000), citam como medidas de controle para o mosaico comum do milho, a eliminação de fontes de inóculo, proporcionadas pela presença de plantas infestantes e adequação da época de plantio para o mês de outubro.

No entanto, a medida mais eficiente é a utilização de cultivares resistentes. Além disso, devido à transmissão não persistente dessas duas potyvirose, o controle de afídeos vetores por via química não é efetivo. Sendo assim, por razões ecológicas e econômicas, o cultivo de variedades de milho resistentes é o método mais eficiente de controle dessas doenças (DUBLE et al., 2000).

Almeida et al. (2001), avaliando 115 cultivares em Ensaio Nacional – Região Centro Oeste no ano agrícola 1997/98, verificaram que a maioria dos cultivares mostrou-se suscetível, apresentando sintomas do mosaico comum do milho aos 15 dias após a inoculação. Desses materiais apenas 16 apresentaram menos de 20% de incidência dessa virose, 64 cultivares apresentaram acima de 50% e os demais, apresentaram incidência intermediária a esses níveis.

2.7 Genética da resistência ao mosaico comum do milho

Fontes de resistência a potyvirus têm sido intensamente investigadas nos EUA e na Alemanha (XIA et al., 1999), e mais recentemente no Brasil (SCHUELTER et al., 2003; SOUZA et al., 2003), visando elucidar o controle genético da resistência ao MDMV e ao SCMV em milho. No entanto, a avaliação da resistência de genótipos de milho à virose do mosaico comum do milho tem sido tratada de maneira homogênea, visto que os genótipos resistentes podem ser o resultado de vários mecanismos e de suas inter-relações com os fatores ambientais e genéticos.

Vários relatos indicam que a replicação do MDMV (ANZOLA et al., 1982) e de SCMV (KUNTZE et al., 1995 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) não é inibida em determinados genótipos resistentes, e sim restrita à região da infecção, corroborando a hipótese de inibição da translocação.

Por outro lado, vários recursos genéticos conferindo resistência à virose apresentam um atraso no aparecimento dos sintomas da doença, podendo indicar que a taxa de replicação do vírus foi inibida (ANZOLA et al., 1982). Vários pesquisadores têm adotado escala de notas e porcentagem de plantas doentes na avaliação da resistência (KUNTZE et al., 1995 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004). Aliada a esses critérios, a avaliação da resistência tem sido realizada em diferentes estádios fenológicos da planta, demonstrando que determinados genes podem ser expressos de maneira diferencial (DUBLE et al., 2000).

De acordo com Melchinger et al. (1998 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) a resistência genética de milho aos potyvirus encontra-se intimamente relacionada com as condições ambientais. Assim, diferenças marcantes quanto à proporção de plantas susceptíveis em relação às resistentes, têm sido detectadas em linhagens e em gerações segregantes.

Em linhagens de milho testadas para MDMV (LOUIE et al., 1990) e para SCMV (MELCHINGER et al., 1998 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004), foi detectada maior incidência da doença em condições de casa de vegetação do que em campo, sugerindo que na primeira condição, o vírus teria maior facilidade para infectar as plantas. Além disso, Ford et al. (1989) verificaram que temperaturas mais elevadas promovem a expressão da susceptibilidade e que, segundo Schuelter et al. (2003), linhagens previamente classificadas como resistentes podem apresentar sintomas nessa condição ambiental, sendo a resistência restabelecida em condições de temperaturas mais amenas.

Em estudos para elucidar os mecanismos de resistência ao SCMV e MDMV, em milho, Law et al. (1989) demonstraram que em plantas resistentes, o transporte do vírus através do sistema vascular foi restringido. Entretanto, nesses materiais, a resistência não foi devido à inibição da multiplicação ou à inativação do vírus.

Em outros trabalhos, linhagens completamente resistentes ao SCMV, MDMV, JGMV e ao SrMV, foram positivas para o vírus nas folhas inoculadas, sendo detectado pelos testes de ELISA (KUNTZE et al., 1995 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004). No entanto, as folhas recém desenvolvidas não apresentavam título do vírus, sugerindo que os mecanismos de resistência são similares.

O número de genes controlando a resistência ao MDMV, de acordo com estimativas, varia de um a três, baseado nos estudos envolvendo vários genótipos resistentes. Josephson e Naidu (1971 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) encontraram que a resistência ao MDMV é herdada de forma dominante e oligogênica. Pela análise de segregação na geração F₂ e de retrocruzamentos, Melchinger et al. (1998 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) demonstraram a adequação de resultados a diferentes modelos, dependendo das condições ambientais e do genótipo dos parentais susceptíveis.

Alguns investigadores (ZUBER et al., 1973 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) concluíram que a resistência ao MDMV foi atribuída largamente à ação gênica aditiva, com os efeitos não aditivos tendo menor intensidade. No entanto, outros trabalhos deduziram que resistência ao MDMV foi completa ou parcialmente dominante.

Em estudo para verificar o controle genético da resistência ao complexo viral em linhagens tropicais, L18 e L520, Schuelter et al. (2003) verificaram que a característica é monogênica dominante, sendo que pelo teste de alelismo, foi demonstrado que as linhagens estudadas portam genes diferentes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e nos Laboratórios de Biotecnologia Vegetal e de Fitopatologia, da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia-MG, no período de julho a dezembro de 2005.

3.1 Isolado viral

No presente estudo foi utilizado o isolado viral GO-01 caracterizado por SILVA (2004), o qual foi mantido "*in vivo*" em plantas de milho doce, cultivadas em vaso na casa de vegetação. A inoculação foi mecânica via extrato vegetal tamponado (EVT), conforme item a seguir.

3.2 Multiplicação e manutenção "*in vivo*" do isolado viral

As partículas de vírus presentes em folhas de milho doce com sintomas de mosaico, dado à infecção pelo isolado GO-01, foram inoculadas em plantas de milho doce sadias para aumento da quantidade de material vegetal infectado, visando o preparo do inóculo. Posteriormente, 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 e contendo sulfito de sódio a 0,1%, na proporção de 1:5 (peso:volume). utilizando-se carborundum como abrasivo.

3.3 Germoplasma avaliado

Foram utilizados 18 cultivares de milho recomendados para a Região do Triângulo Mineiro e Sul de Goiás na safra 2004/2005. As sementes foram adquiridas no comércio local ou obtidas pela doação de empresas da região. Foram testados os seguintes genótipos de milho: Milho Doce, AG1051, 30F87, 30S40, 3021, 30F90, 30F98, 30F80, 30F33, 30F44, 3041, 3027, 30p70, 30F88, BR106, C435, GNZ2728 e ISLA508. Para controle da transmissão do vírus foram semeadas e conduzidas parcelas com plantas de sorgo (*Sorghum graniferum*) de forma idêntica às parcelas de genótipos de milho, totalizando 19 tratamentos.

3.4 Substrato para germinação

Os genótipos de milho avaliados foram semeados em vasos, na casa de vegetação, contendo 1,5L da mistura composta por terra, areia lavada, vermiculita expandida e húmus de minhoca, na proporção de 4:2:1:1, respectivamente.

3.5 Inoculação do germoplasma e avaliação da infecção viral

O inóculo foi preparado a partir de folhas com sintomas de mosaico, coletadas em plantas de milho doce aos 10 a 15 dias após a inoculação. A inoculação foi realizada duas vezes, com intervalo de 1 a 2 dias, em folhas jovens de plântulas com 3 a 4 folhas bem desenvolvidas. O inóculo foi aplicado em duas folhas de cada planta, passando-se duas vezes, na página superior da folha, uma gaze embebida no extrato vegetal tamponado contendo partículas virais do isolado GO-01 preparado conforme método de inoculação descrito anteriormente (item 2.3). As plantas inoculadas e o controle foram conduzidas sob condições de casa de vegetação até 35 a 40 dias para o desenvolvimento de sintomas. Cada planta inoculada foi avaliada quanto à presença ou ausência de sintomas de mosaico, aos 15 e 30 dias após a inoculação, contando-se o total de plantas/vaso e o número de plantas com mosaico/vaso e, em seguida, realizou-se o somatório e a determinação da porcentagem de plantas com mosaico/parcela.

3.6 Tratos culturais e acompanhamento da temperatura do ar

As plantas foram adubadas semanalmente com 0,3 a 0,5 g. vaso⁻¹ de torta de mamona e 1,5 g. vaso⁻¹ de sulfato de magnésio. A adubação mineral foi feita de quinze em quinze dias com 0,5 g vaso⁻¹ de fertilizante comercial contendo macro e micronutrientes (15% N, 15% P₂O₅, 20% K₂O, 1,1% Ca, 4% S, 0,4% Mg, 0,05% Zn, 0,05% B, 0,1% Fe e 0,03% Mn). A rega foi diária aplicando-se aproximadamente 50 mL de água por vaso. Aos 7 dias após a germinação foi realizado o desbaste para manter uma população de 3 a 4 plantas por vaso.

As temperaturas máximas e mínimas do ar da casa-de-vegetação foram observadas diariamente e registradas desde a época da semeadura do milho até a conclusão das avaliações da virose nas plantas de cada bloco.

3.7 Delineamento experimental e análise estatística

O trabalho foi realizado em quatro blocos distribuídos no tempo. O primeiro bloco foi conduzido de 05/08/05 a 21/09/05, o segundo de 27/10/05 a 15/12/05, e o terceiro e quarto bloco de 02/01/06 a 17/02/06, sendo a primeira data de cada bloco a semeadura e a última, a data da segunda avaliação. A inoculação foi realizada no estádio V3, aproximadamente 15 dias após a semeadura. Cada bloco foi composto por 19 tratamentos (genótipos) e cada parcela do tratamento foi constituída por 5 vasos com 3 a 4 plantas, distribuídas inteiramente ao acaso. Foram realizadas, em cada parcela, duas avaliações da porcentagem de plantas com mosaico aos 15 e 30 DAI.

Além das plantas inoculadas com o isolado viral, 3 a 4 plantas de cada genótipo foram cultivadas em um vaso contendo o mesmo substrato, tratamentos culturais e condições de ambiente das plantas testadas, para servirem de referência quanto ao desenvolvimento das plantas nas condições da casa-de-vegetação, sem infecção pelo vírus.

A análise estatística foi realizada considerando-se a porcentagem de plantas com mosaico/parcela, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000), com a análise de variância e a comparação de médias pelo Teste de Scott-Knott (1974) realizadas ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sintomas de mosaico comum causado pelo isolado GO-01 nos genótipos testados iniciaram entre 10 e 15 dias após a inoculação, com a presença de um mosaico típico observado em folhas jovens e caracterizado pela presença de manchas verde-claro que contrastavam com manchas verde normal, concordando com as descrições dos sintomas para o mosaico comum do milho, feitas por Shurtleff (1986).

A Tabela 1 apresenta os dados de temperatura do ar no interior da casa-de-vegetação durante o período de condução de cada bloco experimental.

Tabela 1. Valores médios da temperatura diária do ar no interior da casa-de-vegetação, Campus Umuarama, durante o período do experimento. UFU, Uberlândia, 2007.

Blocos	Temperatura diária do ar (°C)		
	Máxima	Mínima	Média
Primeiro (19/08 a 21/09/2005)	39,9	18,5	29,2
Segundo (07/11 a 15/12/2005)	34,1	19,9	27,0
Terceiro e quarto (18/01 a 17/02/2006)	37,7	20,8	29,2

Tu e Ford (1969 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) demonstraram que em milho há uma relação direta entre temperatura e concentração, incubação e infecção por MDMV. Nesse trabalho, os autores verificaram que a concentração do vírus na seiva da planta foi aumentada diretamente com o aumento da temperatura, assim como também notaram que a percentagem de plantas de milho infectadas foi maior nas temperaturas mais elevadas de pré e de pós-inoculação. Além disso, observaram em temperaturas de incubação de 26,5°C, 21,0°C e 15,5°C, que os sintomas apareceram na planta infectada após 3, 4 e 9 dias, respectivamente.

Comparando as temperaturas observadas (Tabela 1) com os resultados de Tu e Ford (1969 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004) e considerando que o MDMV (SHUKLA et al. 1989) e o isolado GO-01 (SILVA 2004) pertencem ao mesmo gênero viral, *Potyvirus*, verifica-se que as temperaturas médias observadas durante a condução de todos os

blocos favoreceram a obtenção de um inóculo com alta concentração de partículas de vírus. Também pode-se supor que as temperaturas favoreceram a manifestação de mosaico antes da primeira avaliação dos sintomas da infecção viral pelo isolado GO-01. Portanto, os resultados apresentados pelos genótipos avaliados são representativos da porcentagem de plantas que o isolado viral em estudo pode infectar nestas condições ambientais.

O resultado da análise de variância dos tratamentos está apresentado na Tabela 2. Ao analisá-la, verifica-se que houve efeito significativo para as fontes de variação genótipos e blocos.

Tabela 2. Quadro de análise de variância referente à porcentagem de plantas com infecção pelo isolado GO-01.

Fonte de Variação	GL	QM
Genótipos	18	8512,71 *
Época de avaliação de mosaico	1	19,18 ^{ns}
Genótipos x Época de avaliação de mosaico	18	259,51 ^{ns}
Blocos	3	839,51 *
Erro	111	173,80
Total corrigido	151	

* Significativo ao nível de 5%.

CV (%) = 33.39.

Considerando que não houve diferença significativa pelo teste F entre época de avaliação de mosaico e na interação entre genótipos e época de avaliação de mosaico, será discutida apenas a comparação da média de incidência de mosaico entre genótipos e blocos. As Tabelas 3 e 4 apresentam, respectivamente, a comparação da média de incidência de mosaico entre os tratamentos e entre blocos.

Considerando os critérios utilizados por Almeida et al. (2001) observa-se que 7 dos 19 genótipos avaliados, entre eles, 30P70; C435; 30F80; 30F90; 30S40; BR106 e Milho Doce, apresentaram incidência de mosaico inferior a 20% (Tabela 3). Os genótipos GNZ2728; 30F44; AG1051; 3041 e 30F87 apresentaram incidência entre 20 e 40%. Os híbridos 3027; 3021; ISLA508; 30F98; 30F88; 30F33 e o Sorgo tiveram incidência de plantas com sintomas de mosaico superior a 50%.

Tabela 3. Incidência média de mosaico comum causado pelo isolado viral GO-01 em genótipos de milho e sorgo. UFU, Uberlândia, 2007.

Genótipo	Porcentagem de plantas com mosaico ¹		
	15 DAI ²	30 DAI	Média
30P70	0,00	0,00	0,00 a
C435	0,00	0,00	0,00 a
30F80	6,25	5,00	5,63 a
30F90	6,37	5,25	5,81 a
30S40	11,47	9,02	10,25 b
BR106	0,00	32,20	16,10 b
Milho Doce	16,87	18,12	17,50 b
GNZ2728	21,25	26,67	23,96 c
30F44	24,67	29,80	27,24 c
AG1051	50,00	15,45	32,73 c
3041	36,42	35,17	35,80 c
30F87	43,22	41,80	42,51 c
3027	50,00	51,25	50,63 d
3021	59,02	57,57	58,30 d
ISLA508	61,12	66,52	63,83 d
30F98	83,67	84,30	83,99 e
30F88	83,75	86,25	85,00 e
30F33	91,25	92,5	91,88 e
Sorgo	98,02	100,00	99,01 e

(¹) Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

(²) DAI = dias após a inoculação

Tabela 4 Incidência média de mosaico comum causado pelo isolado viral GO-01 em blocos, Uberlândia, 2007.

Blocos	Médias ¹
3	33,17 a1
4	38,93 a1 a2
1	41,79 a2
2	44,04 a2

(¹) Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Pinto et al. (1997) as avaliações do efeito dessa virose sobre a produção de cultivar suscetível mostram redução da ordem de 50% no peso dos grãos.

Dentre os genótipos avaliados apenas os híbridos 30P70; C435; 30F80; 30F90 comportaram-se com uma incidência de mosaico inferior a 6% pelo isolado viral em estudo.

Destacamos entre os cultivares de milho, o híbrido BR106 (T14) que além de ter uma baixa porcentagem de plantas com mosaico (Tabela 03) ele iniciou a manifestação de sintomas após 15 DAI, pois nesta época de avaliação ele não apresentava plantas com sintomas de mosaico enquanto que os demais genótipos do grupo com menor porcentagem de plantas infectadas já apresentavam sintomas aos 15 DAI.

Por outro lado, com o desenvolvimento das plantas, observou-se que no genótipo AG1051 (T13), a porcentagem de plantas com sintomas de infecção viral reduziu de 50,0 % de plantas com mosaico na primeira avaliação para 15,45 % na segunda avaliação de sintomas desta virose. Segundo Shurtleff, (1986) em geral os sintomas de mosaico comum do milho, são mais claramente visíveis em plantas jovens, sendo que, algumas cultivares de milho infectadas podem se recuperar dos sintomas, dificultando a diagnose da doença.

Considerando a diferença entre blocos (Tabela 4) e as temperaturas observadas durante a condução dos blocos (Tabela 2) pode-se dizer que esta diferença não pode ser explicada, pela variação da temperatura diária observada durante a condução de cada bloco. Pode-se observar que o bloco 2 apresentou maior incidência média de mosaico e a menor temperatura máxima observada entre os blocos. Provavelmente isto pode ter ocorrido porque as temperaturas médias diárias tiveram uma variação pequena, de apenas 2°C entre os blocos. Portanto, segundo Tu e Ford (1969 apud OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M, 2004), não deve ter havido, entre os blocos, grande variação na concentração de vírus na seiva plantas inoculadas e o aparecimento de sintomas provavelmente ocorreu com um período de incubação pequeno.

Outro fator que pode explicar esse efeito significativo para os blocos, é o método de preparo e de inoculação do isolado viral. Apesar de todos os procedimentos terem sido realizados de modo padronizado, neste método não se determina a concentração de partículas virais presentes no extrato vegetal macerado de folhas com mosaico, utilizado em cada bloco. É importante dizer que as folhas com mosaico para preparo do inóculo de cada bloco foram colhidas de plantas recém inoculadas, mas entre blocos houve pequena diferença na idade da folha após a inoculação da fonte de inóculo.

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que o experimento foi conduzido pôde-se concluir que:

Os híbridos de milho 3027; 3021; ISLA508; 30F98; 30F88; 30F33 e o sorgo apresentaram incidência de sintomas de mosaico superior a 50%.

Os genótipos AG1051, GNZ2728, 30F44, 3041 e 30F87 apresentaram incidência de plantas com sintomas de mosaico entre 20 e 50%.

Apenas os híbridos 30P70, C435, 30F80 e 30F90; 30S40; BR106 e o Milho Doce apresentaram incidência de plantas com mosaico inferior a 20%.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL – **Anuário da Agricultura Brasileira**. 2006. FNP Consultoria & agro Informativos. São Paulo. 452 p.
- ALMEIDA, A.C.L. **Deteção, caracterização e aspectos epidemiológicos do complexo viral do mosaico comum do milho (*Zea mays* L.)**. 1999. 83 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 1999.
- ALMEIDA, A.C.L.; OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. Deteção de Vírus por RT-PCR, Hibridização “Dot-blot” e Dot-ELISA em Milho com Mosaico Comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 2, p. 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**, Brasília, DF, v. 26, n. 4, p. 766-769, 2001.
- ANZOLA, D. C.; ROMAINE, C.; GREGORY, L. V.; AYERS, J. E. Disease response of sweet corn hibrid derived from dent corn resistant to mayze dwarf mosaic virus. **Phytopathology**, St. Paul, v.72, n. 6, p. 601-604, 1982.
- BALMER, E. Doenças do milho. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, Agronômica Ceres, v. 2, cap. 27, p. 371-391, 1980.
- COSTA, A.S.; KITAJIMA, E.W.; ARRUDA, S.C. Moléstias de Vírus e de Micoplasma do Milho. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, São Paulo, v. 4, p. 39-41, 1971.
- DOUGHERTY, W.G.; CARRINGTON, J.C. Expression and Function of Potyviral Gene Products. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 123-140, 1988.
- DUBLE, C. M.; MELCHINGER, A. E.; KUNTZE, L.; STORK, A.; LUBBERSTEDT, T. Molecular mapping and gene action of Scm1 and Scm2, two major QTL contributing to SCMV resistance to maize. **Plant Breeding**, Berlin, V. 119, n. 3, p. 299-303, 2000.
- FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. **Principais Doenças na Cultura do Milho**. Sete Lagoas, EMBRAPA-CNPMS, 2000. 80 p (Circular técnica, 26).
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In...45^a REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, São Carlos, SP, **Anais...** Julho de 2000. p. 255-258.
- FORD, R.E.; TOSIC, M.; SHUKLA, D.D. **Maize dwarf mosaic virus**. AABD Descriptions of Plant Viruses, n 341, 5 pp. 1989.
- FUCHS; E., GRUNTZIG, M. Influence of sugarcane mosaic virus (SCMV) and maize dwarf mosaic virus (MDMV) on the growth and yield of two maize varieties. **Journal of Plant Disease and protection**, Stuttgart, v. 102, n. 3, p. 44-50, 1995.

- GREGORY, L. V.; AYERS, J. E. Effect of inoculation with maize dwarf mosaic virus at several growth stages on yield of sweet corn. **Plant Disease**, St. Paul, v. 66, n. 9, p. 801-804, 1982.
- HARI, V. The RNA of *Tobacco etch virus*: Further Characterization and Detection of Protein Linked to RNA. **Virology**, New York, v. 112, p. 391-399, 1981.
- HOLLINGS, M.; BRUNT, A.A. Potyvirus group. **CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses**, n. 245, 1981.
- JIANG, J.X.; ZHOU, X.P. Maize dwarf mosaic disease in different regions of China is caused by *Sugarcane mosaic virus*. **Archives of Virology**, New York, v. 147 (Suppl.), p. 2437-2443, 2002.
- JIANG, J.X.; CHEN, Z.X.; ZHOU, X.P. Production of a Monoclonal Antibody to *Sugarcane mosaic virus* and its Application for Virus Detection in China. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, p. 361-364, 2003.
- KITAJIMA, E.W. Citopatologia e Localização de Vírus de Milho e de Leguminosas Alimentícias nas Plantas Infectadas e nos Vetores. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 04, p. 241-254, 1979.
- KONATE, G.; FRITIG, B. An Efficient Microinoculation Procedure to Study Plant Virus Multiplication at Predetermined Individual Infection Sites on the Leaves. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 109, p. 131-138, 1984.
- LAW, M. D.; MOYEWER, J. W.; PAYNE, G. A. Effect of host resistance on pathogenesis of maize dwarf mosaic virus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, n.4, p.757-761, 1989.
- LINDNER, R.C.; KIRKPATRICK, H.C. The Airbrush as a Tool in Virus Inoculations. **Phytopathology**, St. Paul, v. 49, p. 507-509, 1959.
- LOUIE, R. Vascular Puncture of Maize Kernels for the Mechanical Transmission of *Maize white line mosaic virus* and other viruses of maize. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, n. 02, p. 139-143, 1995.
- LOUIE, R.; KNOCK, J. K.; FINDLEY, W. R. Elite maize germoplasm: Reaction to maize dwarf mosaic viruses. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 6, p. 1210-1215, 1990.
- LOUIE, R.; KNOKE, J.K.; REICHARD, D.L. Transmission of *Maize dwarf mosaic virus* with Solid-Stream Inoculum. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 1328-1331, 1983.
- LOUIE, R.; REDINBAUGH, M.G.; GORDON, D.T.; ABT, J.J.; ANDERSON, R.J. *Maize necrotic streak virus*, a New Maize Virus with Similarity to Species of the Family Tombusviridae. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, p 1133-1139, 2000.

MADRIZ-ORDENANA, K.; ROJAS-MONTENEGRO, R.; LUNDSGAARD, T.; RAMIREZ, P.; THORDAL-CHRISTENSEN, H.; COLLINGE, D.B. Mechanical Transmission of *Maize rayado fino marafivirus* (MRFV) to Maize and Barley by means of Vascular Puncture Technique. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, p. 302-307, 2000.

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

MELO, P. R. **Estudo da variabilidade e do usos de métodos moleculares na detecção dos vírus do rayado fino e do mosaico comum do milho (*Zea mays L.*)**. 2000. 104 f. Tese (Mestrado) – Universidade de Brasília, DF.

MUMFORD, D.L. A New Method of Mechanically Transmitting *Curly top virus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 62, p. 1217-1218, 1972.

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M. **Doenças em Milho – Molicutes, Vírus, Vetores, Mancha por *Phaeosphaeria***. Brasília, DF : EMBRAPA Informação Tecnológica, 2004. 276 p.

OLIVEIRA, E.; RESENDE, R.O.; PECCI, M.P.G.; LAGUNA, I.G.; HERRERA, P.; CRUZ, I. Incidência de Virose e Enfezamentos e Estimativa de Perdas Causadas por Molicutes em Milho no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 1, p. 19-25, 1996.

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 p.

PINTO, N.F.J.A.; FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA E. Milho (*Zea mays L.*): controle de Doenças. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. (Ed). **Controle de Doenças de Plantas: grandes culturas**. Viçosa, UFV, 2v. 1131 p. 1997.

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

POLSON, A.; Von WECHMAR, M.B. A Novel Way to Transmit Plant Viruses. **Journal General Virology**, London, v. 51, p. 179-181, 1980.

RAWLINS, T.E.; TOMPKINS, C.M. Studies on the Effect of Carborundum as an Abrasive in Plant Virus Inoculations. **Phytopathology**, St. Paul, v. 26, p. 578-587, 1936.

REDDICK, D.; STEWART, V.B. Transmission of the Virus of Bean Mosaic in Seed and Observations on Thermal Death-point of Seed and Virus. **Phytopathology**, St. Paul, v. 09, p. 445-450, 1919.

REDINBAUGH, M.G.; LOUIE, R.; NGWIRA, P.; EDEMA, R.; GORDON, D.T.; BISARO, D.M. Transmission of Viral RNA and DNA to Maize Kernels by Vascular Puncture Inoculation. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 98, p. 135-143, 2001.

SANFORD, J.C.; KLEIN, T.M.; WOLF, E.D.; ALLEN, N. Delivery of Substances into Cells and Tissues using a Particle Bombardment Process. **Particulate Science Technology**, London, v. 5, p. 27-37, 1987.

SCHUELTER, A. R.; SOUZA, I. R. P.; OLIVEIRA, E.; GUIMARÃES, C. T. Controle genético da resistência ao mosaico comum do milho em linhagens de milho tropical. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 103-110, 2003.

SHUKLA, 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**, Ontario, v. 13, p. 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**, St. Paul, v. 79, p. 223-229, 1989.

SHURTLEFF, M.C. **Compedium of Corn Disease**. 2nd. (Ed) Saint Paul: American Phytopathological Society. 105 p. 1986.

SILVA, F.G. **Caracterização parcial do vírus do mosaico comum do milho Ocorrendo no Município de Itumbiara – GO**. Monografia, Uberlândia, p. 1-37, 2004.

SOUZA, I. R. P.; OLIVEIRA, E.; PERES, M. A.; OLIVEIRA, A. C.; PURCINO, A. A. C. Atividade da peroxidase em linhagens de milho resistentes ou suscetíveis aov. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2003.

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**, Brasília,DF, vol. 21, p. 460-463, 1996.

Xia, X.; MELCHINGER. A. E.; KUNTZE, L.; LUBBERSTED, T. Quantitative trait loci mapping of resistance to sugarcane mosaic virus in maize. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 8, p. 660-667, 1999.

YARWOOD, C.E. Mechanical Transmission of Plant Viruses **Advances in Virus Research**, Orlando, v. 04, p. 243-274, 1957.

ZHANG, L.; ZITTER, T.A.; LULKIN, E.J. Artificial Inoculation of *Maize white line mosaic virus* into Corn and Wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 397-400, 1991.