AVALIAÇÃO DE GERMINAÇÃO, QUALIDADE FISIOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL DE TRANSMISSÃO DE *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* EM SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L.)

Nathan Victor Botta (PIBIC/CNPq/UEM), William Mario de Carvalho Nunes (Orientador). E-mail: wmcnunes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR.

Agronomia – Fitossanidade

Palavras-chave: Estria bacteriana do milho; *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*; transmissão.

RESUMO

A estria bacteriana do milho, causada pela bactéria *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Xvv), é a mais nova e a principal doença bacteriana da cultura do milho (*Zea mays* L.). O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação e a qualidade fisiológica de sementes de milho submetidas à infestação superficial pela bactéria Xvv em condições de laboratório, e determinar o potencial de transmissão da doença a partir de sementes infestadas com a bactéria, e semeadas em vasos em casa de vegetação aos um, 10, 25 e 50 dias após a infestação. Os híbridos utilizados nos testes de germinação foram o AS1844 PRO 4 e Morgan 30a37 PWU. O teste de germinação em papel *germitest* evidenciou o potencial injuriante da bactéria, tanto para o sistema radicular quanto parte aérea das plântulas, enfatizando a maior suscetibilidade do híbrido Morgan 30a37 PWU em que as médias de comprimento de plântulas e raízes diferiram estatisticamente à 5% de significância pelo teste de Tukey e foram inferiores às médias dos tratamentos controle com imersão em solução PBS e sem imersão em solução PBS, frente ao híbrido de milho AS 1844 PRO 4 considerado com boa tolerância a bacterioses, em que as médias dos tratamentos controle com imersão em solução PBS e sem imersão em solução PBS não diferiram estatisticamente do tratamento com a Xvv. Em casa de vegetação utilizou-se apenas o híbrido AS1844 PRO4, as sementes infestadas com a bactéria transmitiram a doença para as plantas até 50 dias após a infestação, confirmado via PCR.

INTRODUÇÃO

Dentre as doenças de maior significância à cultura do milho, destaca-se recentemente a estria bacteriana do milho, causada pela bactéria *Xanthomonas vasicola* pv**.** *vasculorum* (Xvv) (LANG et al., 2017). Foi relatada pela primeira vez no Brasil em 2018 (LEITE et al., 2018) e, atualmente, é considerada a principal bacteriose que afeta a cultura do milho no Brasil, podendo ser encontrada em várias regiões produtoras. Estudos de Arias et al. (2020) avaliaram a ocorrência de Xvv em

sementes provindas de campos infestados e posteriormente a sua transmissão, e descobriram que 22 dos 41 lotes de sementes coletados apresentaram-se positivos para Xvv. Apesar da dimensão atingida pela estria bacteriana do milho no Brasil, poucas são as informações disponíveis. Por isso, os objetivos são avaliar a germinação e a qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.) submetidas à infestação pela bactéria *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Xvv) em condições de laboratório e determinar o potencial de transmissão de Xvv a partir de sementes infestadas com a bactéria semeadas em vasos e em casa de vegetação.

MATERIAIS E MÉTODOS

O isolado utilizado para os experimentos foi Xvv (RL-1) e os híbridos de milho foram AS 1844 PRO 4 e Morgan 30a34 PWU. Para o teste de germinação, todas as sementes foram desinfestadas. A infestação artificial com Xvv consistiu em imergir 38 gramas de sementes em 40 mL de suspensão bacteriana (10^8 UFC/mL) por oito horas. Foram utilizadas 400 sementes por tratamento, incluindo os tratamentos controle com imersão em solução PBS e sem imersão em solução PBS. As sementes foram incubadas em papel *germitest* com 2,5 vezes o seu peso em água destilada e acondicionadas em câmara B.O.D à 28ºC constantes com ausência de luz. Foram realizadas avaliações ao 4º e 7º dia, quanto ao tamanho das plântulas (mm), tamanho das raízes(mm) e número de sementes germinadas. A significância dos resultados foi verificada a partir da análise de variância (ANOVA) pelo software R, teste de Tukey e teste de t (LSD) com nível de 5% de significância. A transmissão de Xvv para plantas foi realizada a partir da semeadura das sementes previamente infestadas artificialmente com Xvv aos um, 10, 25 e 50 dias após infestação. Os vasos foram acondicionados em casa de vegetação. Folhas sintomáticas no estádio fenológico V4 foram coletadas para extração de DNA com o kit *NZY Plant/Fungi gDNA (NZYTech,* Portugal), e confirmação da bactéria pela técnica de PCR com iniciadores específicos para Xvv (Xvv3_F, Xvv3_R) (LANG et al. 2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes de germinação não evidenciaram o potencial da bactéria em afetar a qualidade fisiológica das sementes de milho, pois os resultados obtidos demonstraram uma grande variação dos tratamentos controle e com a Xvv, o que tornou-se evidente foi a diferenciação entre os materiais genéticos utilizados no trabalho, a exemplo o híbrido Morgan 30a37 PWU que demonstrou-se ser mais suscetível durante os testes, com médias do tratamento com a Xvv referentes ao tamanho de plântulas e raízes significativamente inferiores frente aos tratamentos controle, quando projetadas sobre os dados do híbrido de milho AS 1844 PRO 4. Em suma, a infestação superficial com a bactéria não interferiu no potencial germinativo das sementes. O teste de germinação realizado com o híbrido Morgan 30a37 PWU evidenciou que não houve diferença estatística a 5% de significância entre os tratamentos sem imersão e Xvv, mas que ambos os tratamentos diferiram e

superaram o tratamento com imersão em solução PBS (Tabela 1). Entretanto, vale ressaltar que a proposição do trabalho se mostrou isenta, ou seja, os elevados valores de germinação indicaram que a bactéria não interferiu na germinação das sementes de milho do híbrido Morgan 30a37 PWU.

Tabela 1: Médias percentuais de germinação das sementes de milho do híbrido Morgan 30a37 PWU na avaliação da taxa de germinação em sete dias após incubação das sementes dos tratamentos controle com imersão em solução PBS por oito horas, controle sem imersão e *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Xvv). Maringá/PR, 2023.

Tratamentos	Germinação (%)
Imersão	79 B
Sem imersão	93 A
Xvv	94 A

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste t (LSD), a 5% de significância.

O teste de germinação realizado com o híbrido AS1844 PRO 4 evidenciou que não houve diferença estatística a 5% de significância entre os tratamentos, ou seja, a taxa de germinação entre os tratamentos controle (com imersão e sem imersão em meio PBS) mantiveram-se elevadas e não diferiram do tratamento com infestação com a Xvv, indicando que a presença da bactéria nas sementes não influência ou afeta a germinação (Tabela 2).

Tabela 2: Médias percentuais de germinação das sementes de milho do híbrido AS1844 PRO 4 na avaliação da taxa de germinação em sete dias após incubação das sementes dos tratamentos controle com imersão em solução PBS por oito horas, controle sem imersão e *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Xvv). Maringá/PR, 2023.

Tratamentos	Germinação (%)
Imersão	96 A
Sem imersão	96 A
Xvv	97 A

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste t (LSD), a 5% de significância.

Para a avaliação de transmissão da Xvv na semente para as plantas, observou-se lesões a partir do estádio fenológico V2, com pequenas pontuações amarelas, evoluindo para lesões alongadas e estreitas, que acompanhavam as regiões internervais das folhas. No estádio fenológico V4 foi possível observar a expansão das lesões pelas folhas, com formação de extensa área necrótica. Após quatro semanas, as folhas com sintomas característicos da doença foram coletadas para a

detecção da bactéria. Após a extração de DNA total, foi observada pela técnica de PCR convencional a amplificação de fragmentos de 200 pb, produzidos pelos primers específicos para a bactéria Xvv, Xvv3F e Xvv3R (LANG et al. 2017), a partir de tecidos sintomáticos do híbrido AS1844 PRO4 cultivado a partir de sementes infestadas artificialmente pela bactéria aos um, 10, 25 e 50 dias (Figura 1). Estes resultados mostraram que houve transmissão da bactéria pela semente para as plantas de milho até 50 dias após a infestação artificial no híbrido de milho avaliado.

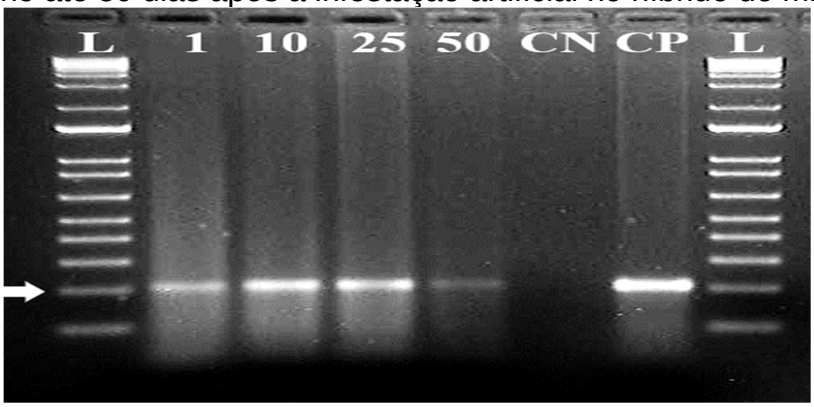

Figura1 – Confirmação por PCR convencional de *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* a partir de tecidos sintomáticos do híbrido AS1844 PRO 4 cultivados a partir de sementes infectadas artificialmente pela bactéria aos um, 10, 25 e 50 dias. Linha L: Ladder de DNA (100 pb). Linhas 1, 10, 25 e 50 (da esquerda para a direita): amplificação de Xvv. CN: controle negativo. CP: controle positivo. A seta indica fragmento de 200 pb produzido pelos primers Xvv3F/Xvv3R (Lang et al. 2017).

CONCLUSÕES

A Xvv pode afetar os processos pós-germinatórios, mas não reduz a qualidade fisiológica de sementes de milho e não influencia na taxa germinatória. A transmissão de Xvv via sementes para as plantas de milho ocorreu em todos os tempos testados, no híbrido AS1844 PRO4 até 50 dias após a infestação artificial com a bactéria.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pela concessão da bolsa e incentivo à pesquisa.

REFERÊNCIAS

ARIAS, S. et al., Potential for seed transmission of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* on maize collected from fields in the United States. **ICPP BOSTON, 2018.**

LANG, J. M. et al., Detection and characterization of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* (Cobb 1894) comb. nov. causing bacterial leaf streak of corn in the United States. **APS Publications**, v. 107, n. 11, pág. 1312-1321, 2017.

LEITE JR, R. P. et al., First report of the occurrence of bacterial leaf streak of corn caused by *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* in Brazil. 2018.