

Identificação molecular de fitoplasma do Grupo 16SrIII: agente causal do superbrotamento de mandioca

Fabrilo Tadeo Isoton¹; Aline Rodrigues Rabello¹; Athos Silva de Oliveira²; Bruna Carolina de Castro Batista²; Renato de Oliveira Resende²; Marília Santos Silva^{1*}

¹ Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970, Planaltina-DF, *marilia@cpac.embrapa.br

² Universidade de Brasília – UnB, Brasília, DF

Introdução

Fitoplasmas são bactérias patogênicas sem parede celular, hospedeiras obrigatórias e residentes no tecido floemático de plantas infectadas. Esses patógenos ocorrem no mundo inteiro causando danos severos em várias culturas agrícolas economicamente importantes. No Brasil, a etiologia de várias doenças possivelmente causadas por fitoplasmas é ainda desconhecida. A classificação taxonômica dos fitoplasmas é baseada na sequência do gene 16S rRNA (RNA ribossomal). No presente trabalho, um fitoplasma pertencente ao Grupo 16SrIII (*X-disease group*) foi identificado infectando naturalmente plantas de mandioca, no município de Arinos-MG, em campo experimental do Programa de Melhoramento Participativo de Mandioca para o Cerrado.



Material e Métodos

Plantas de mandioca com sintomas de superbrotamento ou envassouramento típicos de infecção por fitoplasma (Figura 1) foram coletadas no município de Arinos-MG. Para caracterizar esse fitoplasma, DNA total de plantas de mandioca sintomáticas foi extraído e usado com molde para amplificação do gene 16S rRNA por *nested*-PCR (PCR dupla) utilizando-se *primers* universais para detecção de fitoplasmas (Lee *et al.*, 1995). Um fragmento amplificado de tamanho esperado de aproximadamente 1,4 Kb foi clonado no vetor pGEM-T Easy (Promega) e sequenciado. A identidade da sequência obtida em relação a outras sequências disponíveis no *GenBank* foi analisada utilizando-se o programa BLAST.



Figura 1. Sintoma de superbrotamento ou envassouramento de mandioca típicos de infecção por fitoplasma (esquerda). Planta de mandioca sadia (direita).

Resultados e Discussão

O protocolo descrito por Lee *et al.* (1995) para extração de DNA total e *nested*-PCR para amplificação do gene 16S rRNA de fitoplasmas foi executado com sucesso sem necessidade de adaptações. Identidades de sequência com outros membros do Grupo 16SrIII (*X-disease group*) maiores que 90% permitem classificar o fitoplasma de mandioca como um membro desse Grupo (Tabela 1, Figura 2). Portanto, foi identificado e classificado o agente etiológico do superbrotamento de mandioca ocorrente em Arinos-MG. Ensaios de transmissão desse fitoplasma por insetos vetores candidatos estão sendo feitos para corroborar essa afirmação. Além de mandioca, outras culturas agronomicamente importantes no Brasil apresentam infecção por fitoplasmas do Grupo 16SrIII, como tomate, maracujá, uva dentre outras (Montano *et al.*, 2007).



Conclusão

Um fitoplasma do Grupo 16SrIII é o agente etiológico do superbrotamento de mandioca em Arinos-MG.

Tabela 1. Identidade de sequência nucleotídica do gene 16S rRNA de fitoplasma de mandioca ocorrente em Arinos-MG com outras sequências depositadas no *GenBank*.

# Acesso dos genes 16S rRNA <i>GenBank</i>	Fitoplasma do Grupo 16SrIII (<i>X-disease group</i>) correspondente ao gene 16S rRNA	% Identidade de sequência do gene 16S rRNA
L33766	<i>Clover yellow edge mycoplasma-like organism 16S rRNA gene.</i>	96%
L33733	<i>Canadian peach X mycoplasma-like organism 16S rRNA gene.</i>	95%
AY737646	<i>Cassava frogskin disease phytoplasma strain FSDY17 16S rRNA gene, partial sequence.</i>	94%
AY737647	<i>Cassava frogskin disease phytoplasma strain FSDY29 16S rRNA gene, partial sequence.</i>	94%
FJ404775	<i>'Melia azedarach' decline phytoplasma 16S rRNA gene, partial sequence.</i>	94%

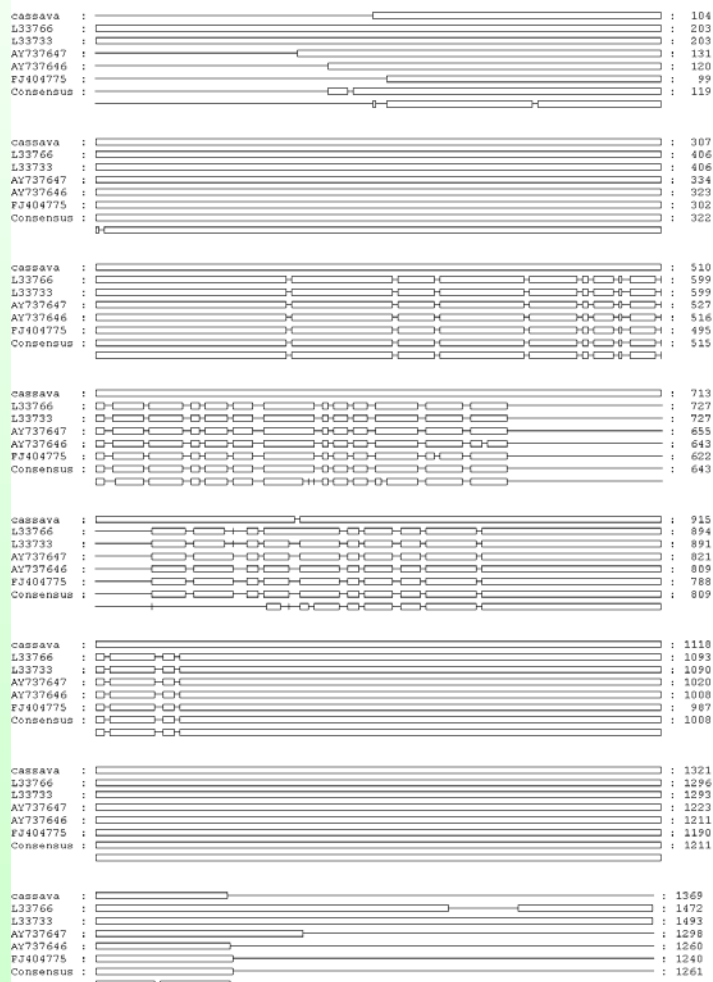


Figura 2. Alinhamento múltiplo das sequências nucleotídicas do gene 16S rRNA de fitoplasma mencionadas na Tabela 1. Blocos e linhas verticais indicam sequências idênticas. Linhas horizontais indicam sequências não conservadas. Cassava= gene 16S rRNA de fitoplasma de mandioca, Arinos-MG.

Literatura Citada

Lee *et al.* Phytopatology, Vol. 85, 1995.

Montano *et al.* Bulletin of Insectology, Vol. 60, 2007.