

## Obtenção e identificação de isolados de *Xanthomonas axonopodis* via PCR para uso em ensaios de seleção de genótipos de mandioca resistentes

Thiago Viana Oliveira<sup>1</sup>, Daniela de Souza Nascimento<sup>2</sup>, Cláudia Fortes Ferreira<sup>3</sup>, Saulo Alves Santos de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, viana.thiago@hotmail.com ; <sup>2</sup>UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, danysouza90@hotmail.com; <sup>3</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, claudia.ferreira@embrapa.br, saulo.oliveira@embrapa.br

Uma das principais causas de perda de produtividade em mandioca é devido a ocorrência de doenças, destacando-se como uma das mais destrutivas a bacteriose. Esta doença é causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Xam), que é capaz de infectar toda a parte aérea da planta, incluindo folhas e hastes, afetando a planta em qualquer estágio do seu desenvolvimento e que limita a produção. Para a seleção precoce de plantas resistentes a doenças, faz-se necessário a obtenção e manutenção de isolados dos patógenos associados a estas enfermidades, bem como a sua correta caracterização. O objetivo deste trabalho foi obter e identificar, por meio de primers específicos, novos isolados provenientes de diferentes propriedades localizadas em Mato Grosso do Sul, Paraná e Bahia. Para tanto, amostras de folhas e hastes de mandioca sintomáticas foram coletadas nas diferentes localidades, encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, e isoladas em meio YPG. As folhas e/ou hastes foram cortadas em fragmentos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>, imersas em hipoclorito de sódio (1%) por 30 segundos, seguido por lavagem em água destilada esterilizada (ADE) por 30 segundos. Este processo foi repetido por três vezes e, em seguida, uma etapa adicional de lavagem em ADE foi realizada. Os fragmentos de tecido foram depositados em almofariz e macerados com auxílio de pistilo e suspensos em 0.5 mL de ADE. O conteúdo (extrato da maceração + ADE) foi semeado em placas de Petri contendo o meio YPG, pelo método das missangas. Um total de 20 isolados foram obtidos com características similares às esperadas para Xam, dos quais 14 foram identificados como Xam com base nos primers específicos XV/XK e XV/VK\_Mod. Para reduzir a chance de ocorrência de falsos negativos, as reações com os primers específicos foram realizadas em multiplex com primers universais da região 16S. Os isolados obtidos foram preservados em tubos contendo meio YPG inclinado e YPG+Glicerol (30%), para utilização futura em seleção de plantas resistentes de mandioca.

**Significado e impacto do trabalho:** Devido a necessidade de bacterioses confirmadas molecularmente para o uso em programas de melhoramento. Com o resultado de confirmação e a conservação do material, visando a obtenção de cultivares resistentes a bacteriose implicará em grande auxílio para a otimização do tempo em programas de melhoramento da mandioca.