

## Enriquecimento da coleção biológica de trabalho de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Xam) da Embrapa Mandioca e Fruticultura: Identificação por PCR e patogenicidade

Cristiana Bomfim Moreira Vidal<sup>1</sup>; Maria Selma Aves Silva Diamantino<sup>2</sup>; Laís Barreto de Oliveira<sup>3</sup>; Danilo Almeida Brito<sup>4</sup>; Saulo Alves Santos de Oliveira<sup>5</sup>; Claudia Fortes Ferreira<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, [cristiana.vidal@hotmail.com.br](mailto:cristiana.vidal@hotmail.com.br);

<sup>2</sup>Pós-Doutorado da Embrapa Mandioca e Fruticultura, [mariaselmasd@hotmail.com](mailto:mariaselmasd@hotmail.com);

<sup>3</sup>Mestranda do curso de Recursos Genético da Universidade Federal da Bahia;

<sup>4</sup>Estudante de Licenciatura em Biologia Universidade Federal da Bahia, [danilo.a.brito@hotmail.com](mailto:danilo.a.brito@hotmail.com);

<sup>5</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, [saulo.oliveira@embrapa.br](mailto:saulo.oliveira@embrapa.br); [claudia.ferreira@embrapa.br](mailto:claudia.ferreira@embrapa.br)

A bacteriose da mandioca, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Xam) é uma doença extremamente destrutiva, principalmente em países da América do Sul e na África, que reduz a produtividade tanto de forma direta, pela destruição da parte aérea da planta, como indiretamente, pela redução na produção de manivas utilizadas na propagação vegetativa da mandioca. Uma vez presente na planta, as manivas servem como fonte de inóculo primário para os ciclos de cultivo seguintes, uma vez que a bactéria Xam, também infecta a haste e o sistema vascular. Este trabalho teve como objetivo identificar, por meio de primers específicos, novos isolados de (Xam), provenientes de diferentes propriedades localizadas nos Estados da Bahia, Mato Grosso do Sul e Paraná, bem como verificar a patogenicidade. Amostras sintomáticas de folhas e hastes de mandioca foram coletadas em diferentes localidades, levadas para o Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Em seguida 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 três lavagens em água destilada esterilizada (ADE) por 30 segundos cada, e os fragmentos de tecido foram macerados com o auxílio de um almofariz. Realizou-se diluição seriada em que os fatores foram de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup> seguido de transferência de alíquota de 50 µL para placas de petri contendo meio YPG sólido, e distribuído utilizando esferas de vidro esterilizadas, e crescidas em BOD 24h a 28 °C e 12h de luz. A extração do DNA total foi realizada por aquecimento das colônias a 95 °C por 10 minutos em termociclador. Para identificação dos isolados, utilizou-se o par de primers específico XV e XK, além da variação otimizada XK\_Mod. Um total de 468 isolados foram obtidos com características de colônia similares às esperadas para Xam, dos quais 86 foram identificados como (Xam) com base nos oligonucleotídeos específicos XV/VK\_Mod. 54 isolados dos 86 caracterizados com Xam, com base na presença de padrão de banda específica, foram inoculados em mudas de mandioca (var. BRS Kiriris). As suspensões bacterianas foram preparadas em solução de MgCl<sub>2</sub> a 10 mM e a concentração estimada com auxílio de espectrofotômetro digital (OD 600 = 0,01 correspondendo aproximadamente a 10<sup>5</sup> UFC/mL). Para inoculação das plantas controle utilizou água destilada esterilizada. As inoculações foram realizadas por meio de infiltração no limbo foliar, em seguida as plantas foram mantidas em câmara úmida por 24 horas para favorecer a infecção. Para avaliação da patogenicidade foi atribuída nota 0 para ausência de sintoma e 1 presença de sintoma 90,7% dos isolados testados foram patogênicos à var. BRS Kiriris, sendo os isolados: Xam1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 18; 19; 23 e 49 os mais agressivos, enquanto os isolados Xam35; 36; 37; 53 e 59 não apresentaram patogenicidade para a variedade em estudo. 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:** Uma das principais causas de perda de produtividade em mandioca é devida ao ataque doenças, destacando-se como uma das mais destrutivas à bacteriose que tem como agente causal a bactéria *Xanthomonas axonopodes* pv. *manihotis*. Esta doença pode afetar a planta em qualquer estágio do seu desenvolvimento, podendo ser limitante para a produção. O uso de variedades resistentes é a medida de controle mais eficiente para a doença.