

**FITOPLASMAS**

**E**

**ESPIROPLASMAS**

# CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA (Bergey's Manual)

Domínio *Bacteria*

Filo BXIII *Firmicutes*

Classe II *Mollicutes*

Ordem II *Entomoplasmales*

Família II *Spiroplasmataceae*

Gênero I *Spiroplasma*

Domínio *Bacteria*

Filo BXIII *Firmicutes*

Classe II *Mollicutes*

Ordem III *Acholeplasmatales*

Família I *Acholeplasmataceae*

Gênero I *Phytoplasma* (*Candidatus*)

# BREVE HISTÓRICO

- **Associação com doenças em animais**

- Pleuropneumonia bovina conhecida desde anos 1700
- Micoplasma agente patogênico descoberto em 1887
- Agente da Agalactia infecciosa em caprinos (1923)
- Agentes causais de doenças em suínos, ovelhas, cães, gatos e aves

# BREVE HISTÓRICO

- **Associação com organismo humano**

- Cavidade bucal

- Aparelho urinário

- Aparelho respiratório

- Tecidos de portadores de leucemia

# AMARELOS

- **Características da doença**

- Sintomatologia tipo clorose, nanismo, superbrotamento
- Transmissão enxertia / cigarrinhas
- Remissão sintomas com uso tetraciclina

# Inicialmente doença foi atribuída aos vírus

- Fato intrigante: ausência partículas virais nos tecidos doentes

# “AMARELOS”

## . *Descoberta dos fitoplasmas em plantas (1967)*

*Exame plantas sem e com sintomas de amarelo*

*Uso de Microscopia Eletrônica*

- Amoreira com nanismo
- Batata com superbrotamento
- Margarida com amarelo
- Quiri com superbrotamento



# AMARELOS

## ***– Evidência***

- Presença corpúsculos pleomórficos floema plantas doentes
- Ausência corpúsculos floema de plantas sadias

## ***– Evidência complementar***

- Remissão de sintomas em plantas tratadas com tetraciclina

## ***– Conclusão***

- Micoplasmas estavam associados aos amarelos

## ***– Terminologia***

- 1967 – MLO (micoplasma-like organism)
- 1994 – Fitoplasmas

# FITOPLASMAS: características morfológicas

- **Morfologia e ultraestrutura**

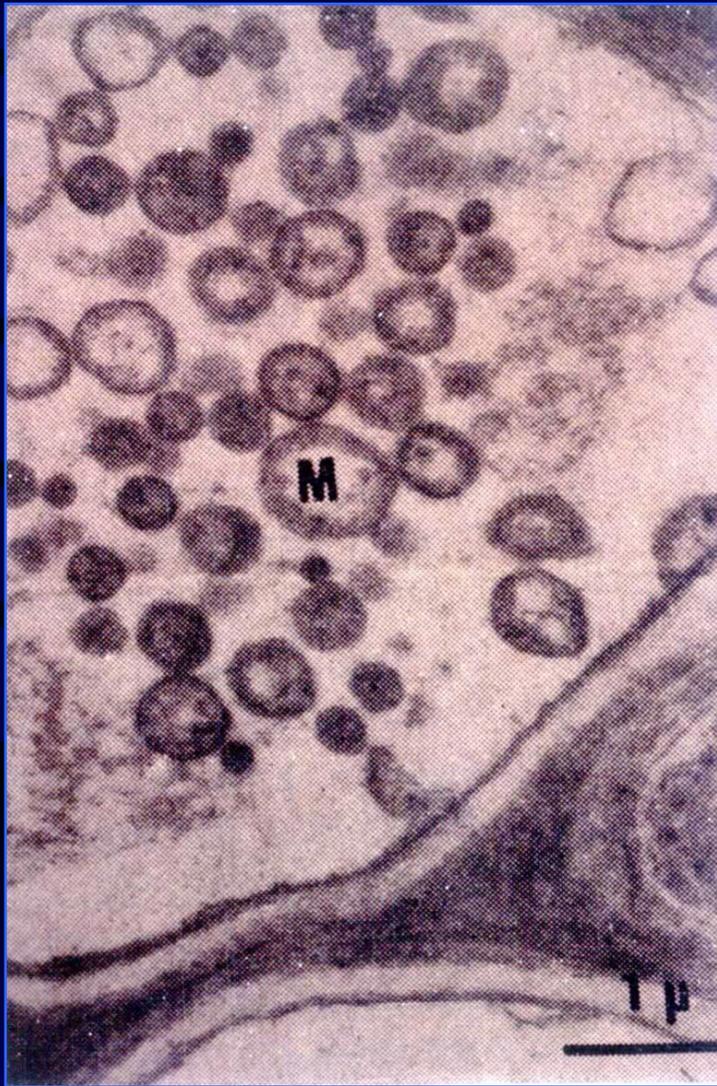
- Procariotos
- Ausência parede celular
- Membrana celular envolve protoplasma
- Pleomorfismo: ausência de forma definida
- Dimensão: variável 0,1 a 1,0  $\mu\text{m}$  diâmetro
- Áreas citoplasmáticas grânulos densos
- Regiões citoplasmáticas com filamentos
- Limiar organismos celulares
- Reprodução gemulação/ fissão binária



**a) Amoreira**



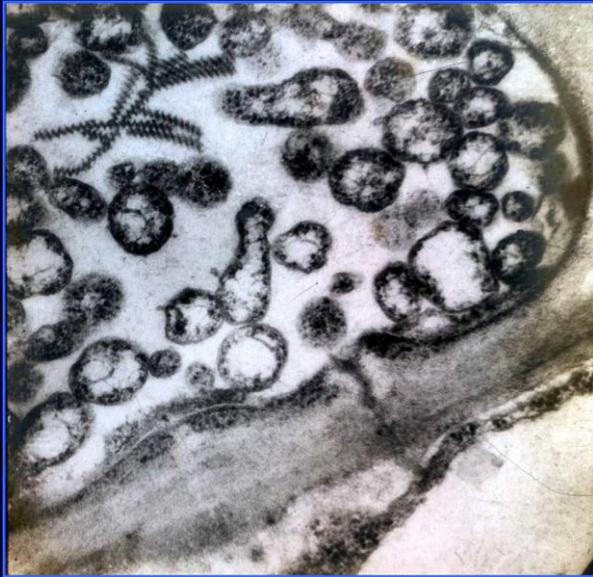
**b) Batata**



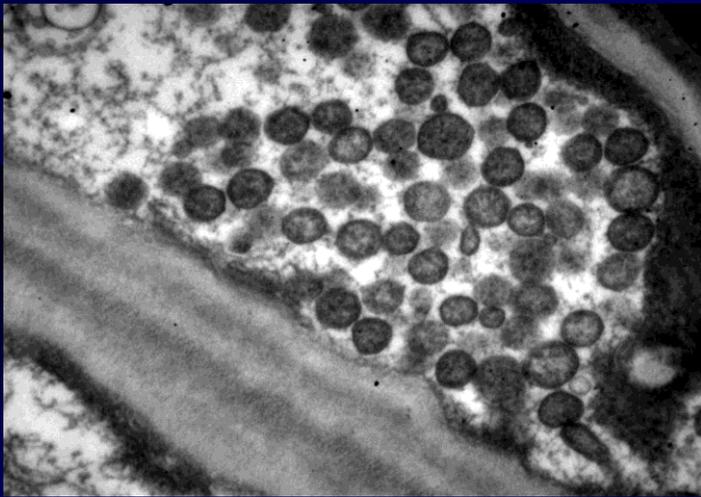
**Células de fitoplasma em vasos de floema**



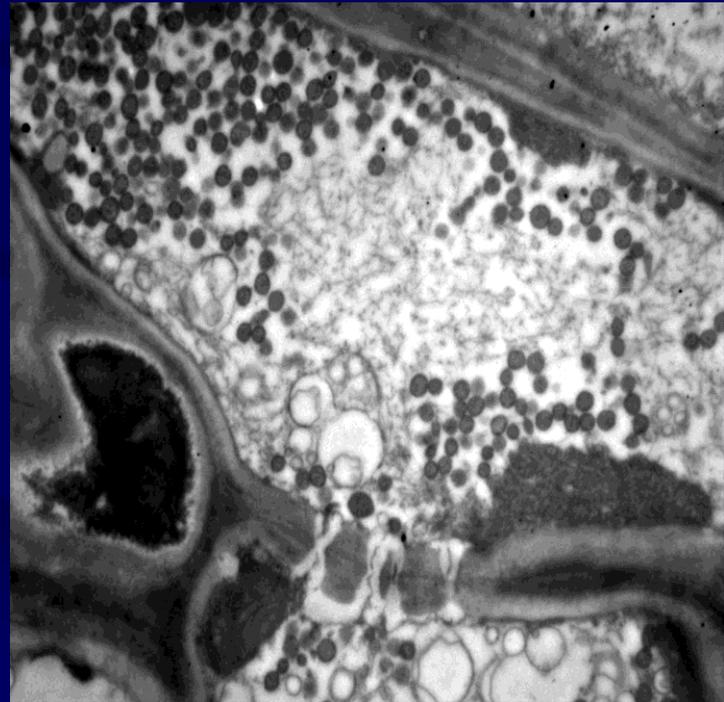
**Passagem de células de fitoplasma via plasmodesmas de células de floema**



**Fitoplasma em floema de milho**



**Fitoplasma em floema de hibisco**



# FITOPLASMAS: patogenicidade

- *Evidências de patogenicidade*

**Presença fitoplasma em planta sintomática/ausência em planta sadia**

**Planta sadia + inseto infectivo = planta doente**

**Enxerto parte de planta doente em planta sadia = planta doente**

**Remissão de sintomas coincidente com ausência fitoplasmas**

**Mecanismo patogenicidade: desequilíbrio hormonal**

# FITOPLASMAS : Detecção

- Microscopia eletrônica: detecção direta
- Metodologia molecular: detecção indireta
  - Técnica de **PCR**  
[Gerar fragmentos do 16S rDNA do fitoplasma]

•# Lembrete: fitoplasmas não são cultiváveis em meio de cultura

# FITOPLASMAS: hospedeiros

- **Vegetais: habitantes dos vasos de floema**
  - gama de espécies botânicas cultivadas
  - diversidade de espécies silvestres e daninhas
- **Insetos: habitantes de diversos órgãos internos**
  - glândulas salivares
  - aparelho digestivo
  - portadores e transmissores por toda vida
  - passagem para descendentes??

# FITOPLASMAS: transmissão

## • Transmissão natural:

- **Insetos vetores** (cigarrinhas que se alimentam no floema)

## • Transmissão experimental

- **Insetos vetores** (cigarrinhas que se alimentam no floema)
- **Cuscuta** (planta parasita retira nutrientes do floema das plantas parasitadas)
- **Enxertia** (união de tecidos permite contato entre floema de planta doente e floema de planta sadia)

## Transmissão por insetos vetores



*Dalbulus maidis*



*Macrosteles* spp



*Graminella nigrifons*

## Transmissão por insetos vetores

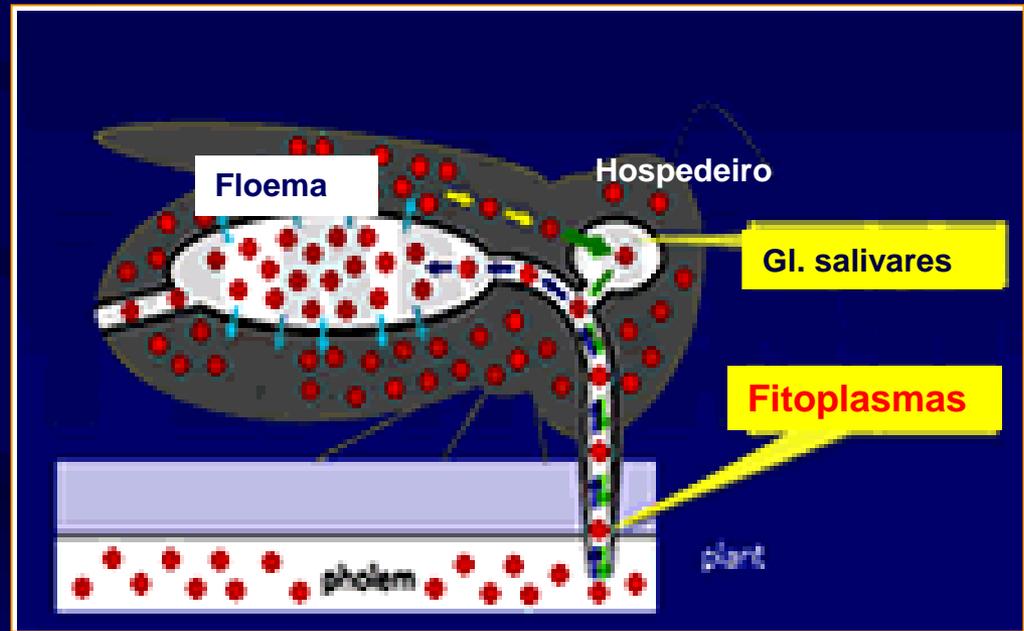


**Planta doente**



**Planta sadia**

**Aquisição / Transmissão de fitoplasmas  
pelo vetor ao se alimentar em planta  
doente /sadia**



## Transmissão por cuscuta



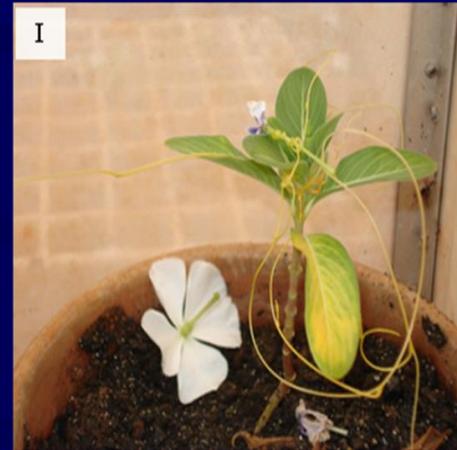
## Transmissão por cuscuta



Cuscuta sadia em planta de vinca sadia



Cuscuta sadia estabelecida em planta doente de mandioca



Cuscuta infectada instalada em planta sadia de vinca ... que se torna doente



Planta doente

**Transmissão por  
enxertia**



# FITOPLASMAS: Sintomas

- Amarelos
- Clorose foliar
- Redução tamanho das folhas
- Diminuição órgãos florais
- Superbrotamento de ramos
- Enfezamento (nanismo)
- Declínio da planta
- Esterilidade
- Filodia
- Virescência

# Mecanismo de patogenicidade relacionado com desbalanço hormonal

# ESPIROPLASMAS

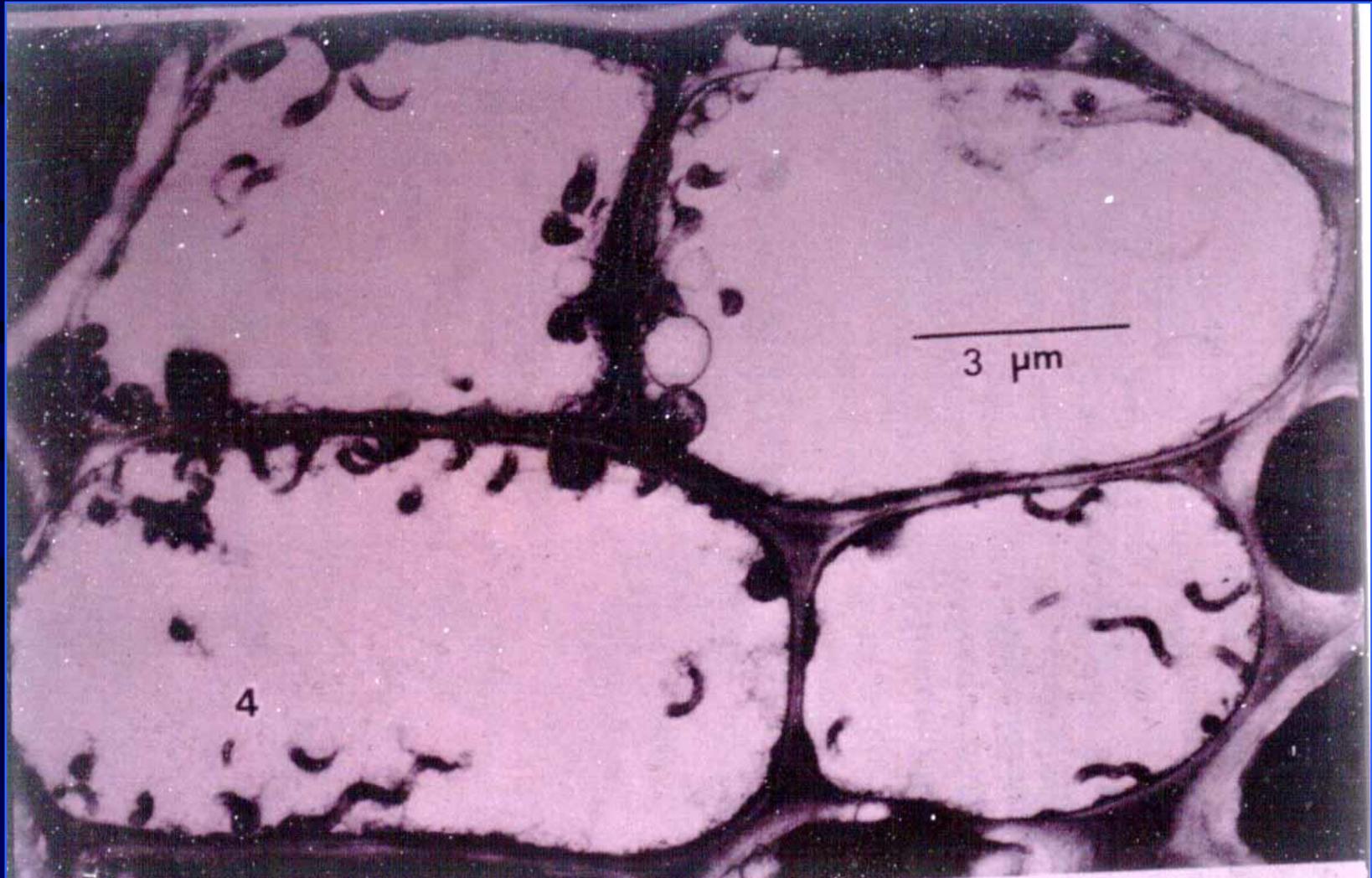
- Descritos em 1972
- Plantas de milho com sintomas de enfezamento
- Observação em microscópio de luz e eletrônico
- Características morfológicas idênticas aos fitoplasmas , porém com forma helicoidal
- Denominação de espiroplasmas



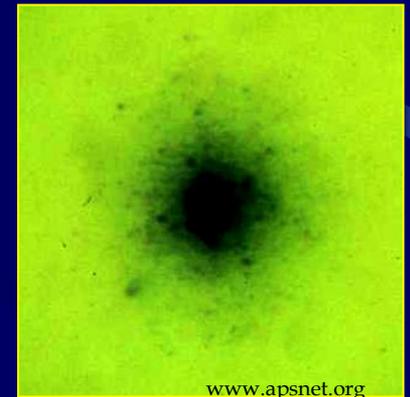
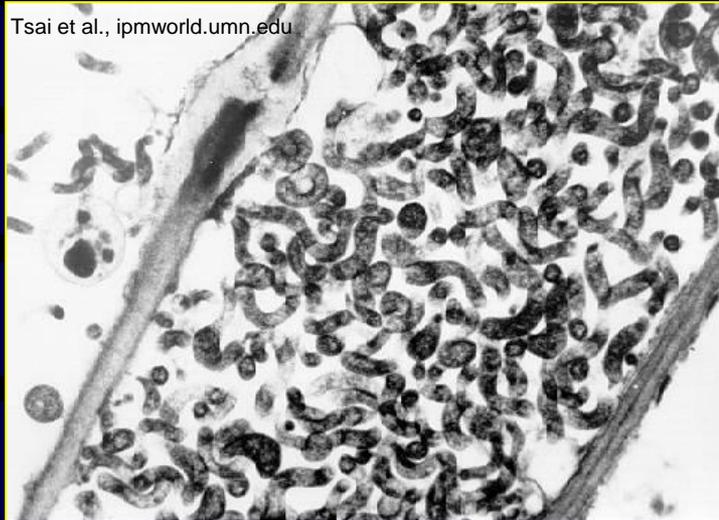
# ESPIROPLASMAS: aspectos morfológicos

- Procariotos
- Ausência de parede celular
- Membrana circunda protoplasma
- **Forma helicoidal (células espiraladas)**
- Dimensão: 0,15 – 0,20  $\mu\text{m}$  diâmetro e 2 – 5  $\mu\text{m}$  comprimento
- Áreas citoplasmáticas grânulos densos
- Regiões citoplasmáticas com filamentos
- **Cultivados em meio de cultura complexos**
- **Características de colônia:**
  - Principal e satélites
  - Tipo ovo frito

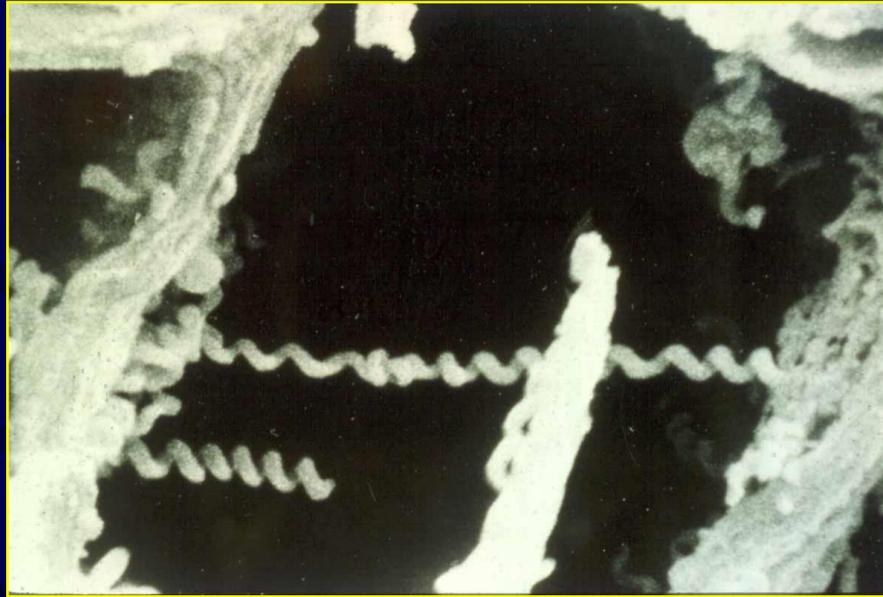
## Espiroplasma – Floema de planta de milho



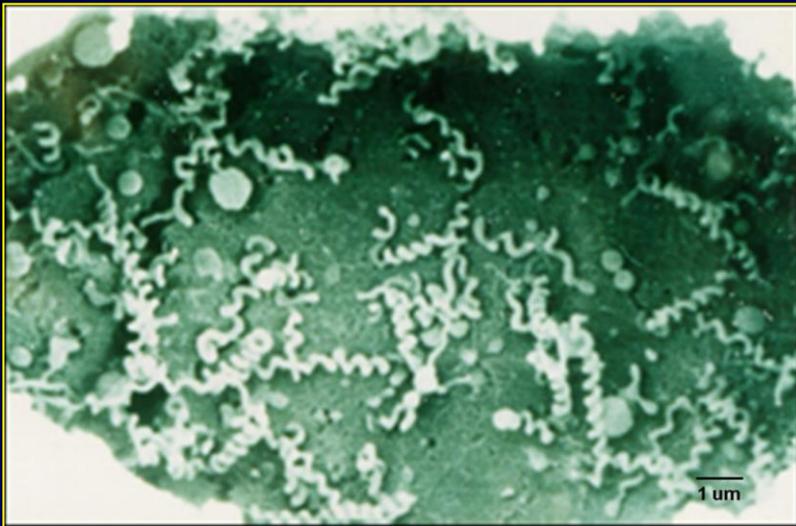
# ESPIROPLASMAS



# ESPIROPLASMAS



## Microscopia Eletrônica de Varredura

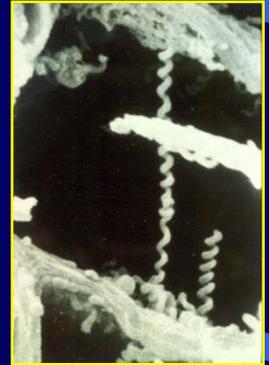


# ESPIROPLASMAS: Sintomas

- Amarelos
- Clorose foliar
- Redução tamanho das folhas
- Diminuição órgãos florais
- Superbrotamento de ramos
- Enfezamento (nanismo)
- Declínio da planta

# ESPIROPLASMAS: Detecção

- **Microscopia óptica** (detecção direta em microscópio de luz)
- **Microscopia eletrônica** (detecção direta)
- **Teste serológico** (detecção indireta por reação antígeno-anticorpo)
- **Técnica molecular** (detecção indireta por amplificação do 16S rDNA )



# ESPIROPLASMA: hospedeiros

- **Vegetais: habitantes dos vasos de floema**

- poucas espécies botânicas cultivadas (milho e citros)
- restritas espécies silvestres e daninhas

- **Insetos: habitantes de diversos órgãos internos**

- glândulas salivares
- aparelho digestivo
- portadores e transmissores por toda vida
- passagem para descendentes??

# ESPIROPLASMAS: transmissão

## • Transmissão natural:

- **Insetos vetores** (cigarrinhas que se alimentam no floema)

## • Transmissão experimental

- **Insetos vetores** (cigarrinhas que se alimentam no floema)
- **Cuscuta** (planta parasita retira nutrientes do floema das plantas parasitadas)
- **Enxertia** (união de tecidos permite contato entre floema de planta doente e floema de planta sadia)

# CICLO DA RELAÇÃO

## FITOPLASMAS / ESPIROPLASMAS

### COM SEUS HOSPEDEIROS NA NATUREZA

---

- **Sobrevivência:** hospedeiros vegetais e insetos
- **Disseminação:** insetos tipo cigarrinhas
- **Penetração:** via ferimentos provocados pelo vetor
- **Colonização:** sistêmica através vasos floema
- **Reprodução:** assexuada por fissão binária

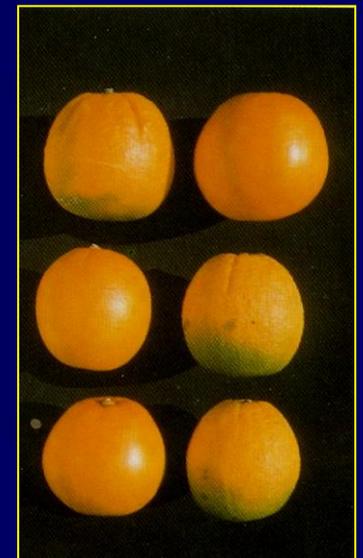
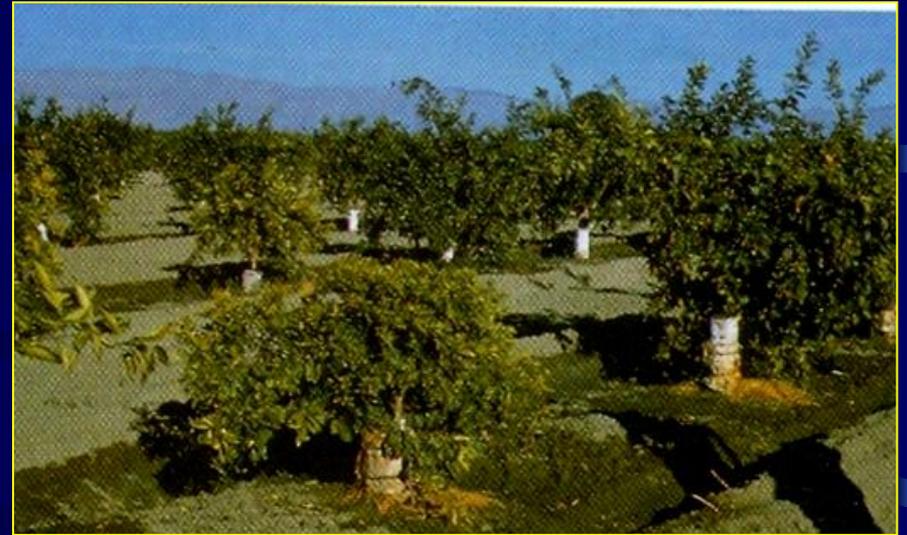
## Espiroplasma no Brasil



**Milho:** *Spiroplasma kunkeli*  
**Enfezamento pálido**

# Espiroplasma

Stubborn citrus: *Spiroplasma citri*



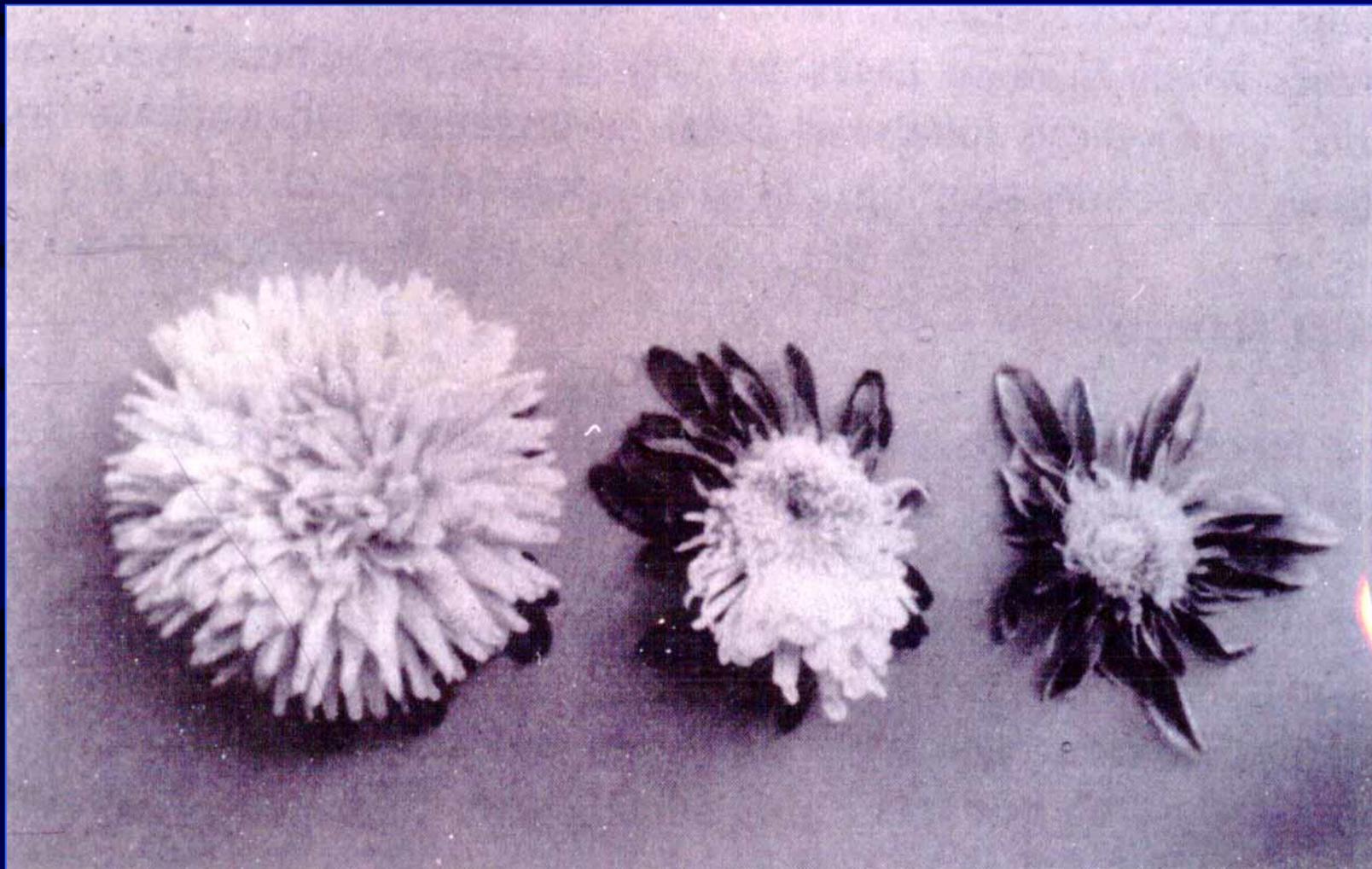
# Espiroplasma



**Stubborn citros:** *Spiroplasma citri*



# **Sintomatologia de Doenças Associadas aos Fitoplasmas**



Flores da Rainha Margarida com filodia

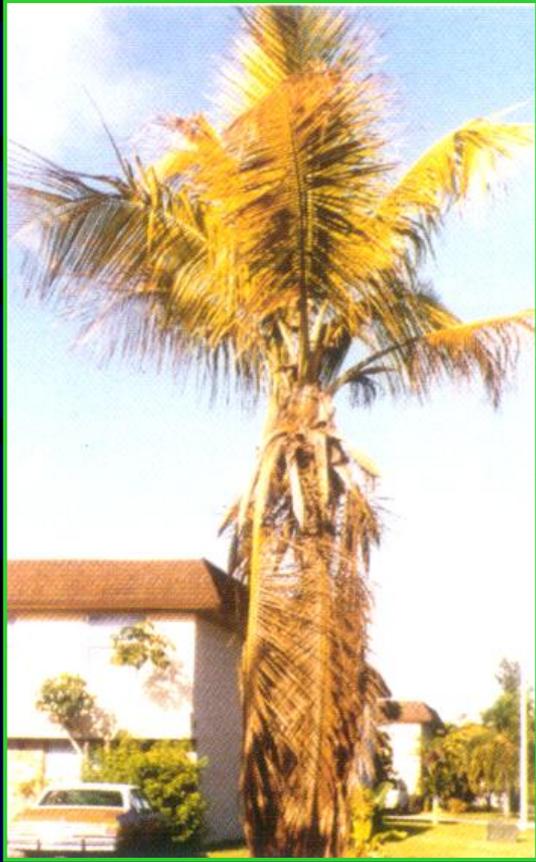




**Poinsetia**

**Bico-de-papagaio**





**Amarelo letal do coqueiro**



**Amarelo da videira**





**Pétala verde do morangueiro**



**Virescência da hidrântea**



**Superbrotamneto da batata**



**Amarelo do alface**



## Superbrotamento do Chuchu





## Superbrotamento do Maracujazeiro



# Filodia do morangueiro



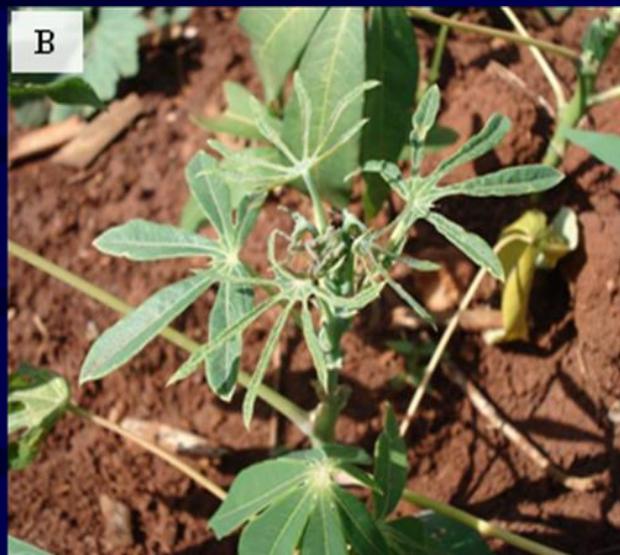
## Amarelo da videira



## Vira-cabeça do mamoeiro



## Superbrotamento da mandioca





**Superbrotamento da Berinjela**





## Superbrotamento da Berinjela





**Enfezamento do Repolho**



**Síndrome amarelecimento  
foliar cana de açúcar**



## Enfezamento da couve-flor e brócolis



Planta sadia, com inflorescência normal / Planta doente, com inflorescência irregular / Planta com sintomas de enfezamento: inflorescência deformada e folhas avermelhadas / Planta doente com proliferação de brotos laterais / Necrose de floema



## Amarelo ou declínio do cinamomo



## Fitoplasmas em espécies daninhas



Superbrotamento  
erigeron ou buva



Superbrotamento mentrasto



Enfezamento mentruz



## Fitoplasmas em espécies daninhas



Filodia em picão-preto





**Híbridos**



**Plantio comercial**



***Bougainvillea spectabilis***



**Superbrotamento da primavera**

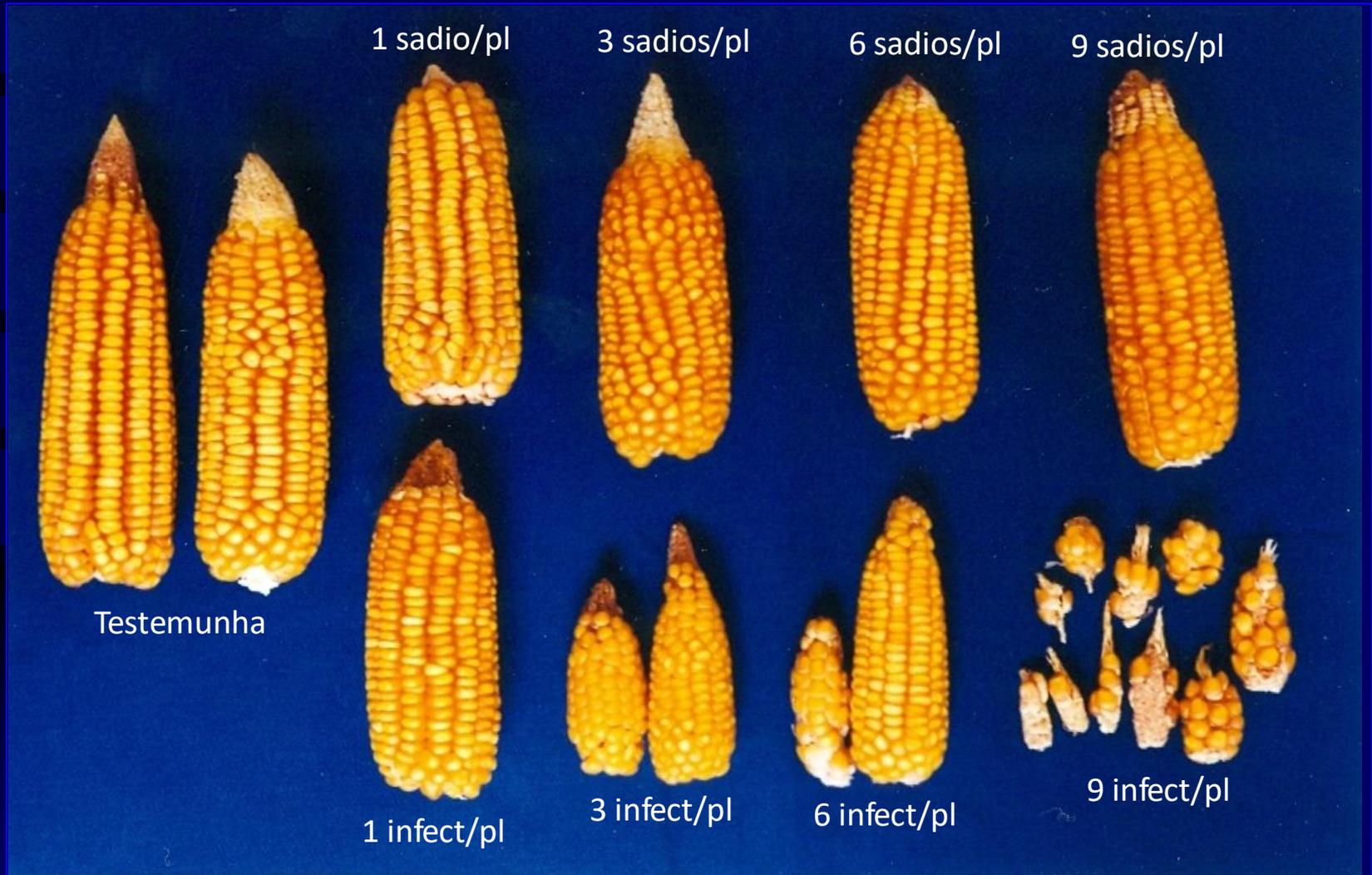


# Enfezamento vermelho do milho



TRATAMENTO	COMPONENTES DE PRODUÇÃO			
	NÚMERO DE ESPIGAS/PLANTA	COMPRIMENTO DE ESPIGA (cm)	NÚMERO DE GRÃOS/PLANTA	PESO DE MIL GRÃOS (g)
TESTEMUNHA	<b>1</b>	<b>14,5</b>	<b>381</b>	<b>288</b>
INSETO NÃO INFECTIVO <b>(1)</b>	<b>1</b>	<b>13,9</b>	<b>325</b>	<b>287</b>
INSETO NÃO INFECTIVO <b>(3)</b>	<b>1</b>	<b>13,3</b>	<b>368</b>	<b>273</b>
INSETO NÃO INFECTIVO <b>(6)</b>	<b>1</b>	<b>12,8</b>	<b>307</b>	<b>265</b>
INSETO NÃO INFECTIVO <b>(9)</b>	<b>1</b>	<b>13,2</b>	<b>328</b>	<b>282</b>
INSETO INFECTIVO <b>(1)</b>	<b>1,6</b>	<b>11,1</b>	<b>254</b>	<b>281</b>
INSETO INFECTIVO <b>(3)</b>	<b>1,3</b>	<b>11</b>	<b>248</b>	<b>230</b>
INSETO INFECTIVO <b>(6)</b>	<b>1,9</b>	<b>7,5</b>	<b>200</b>	<b>184</b>
INSETO INFECTIVO <b>(9)</b>	<b>3,8</b>	<b>4,3</b>	<b>63</b>	<b>160</b>

# Enfezamento vermelho do milho

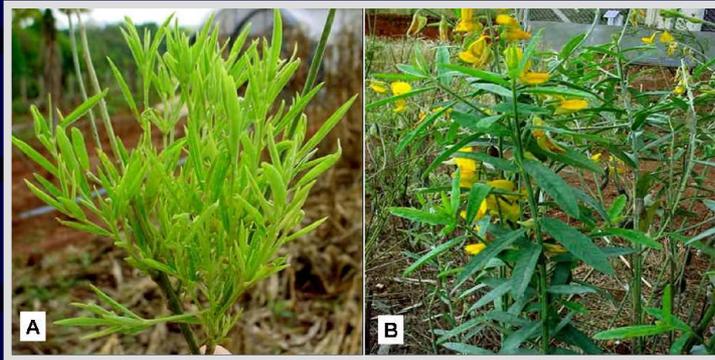


# FITOPLASMAS : Diagnose

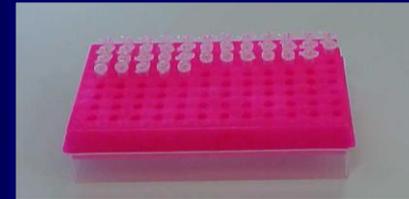
- **Observação de sintomas**
- **Detecção em tecido de plantas sintomáticas**
  - Microscopia eletrônica: detecção direta
  - Metodologia molecular: detecção indireta
    - Técnica de **PCR**  
[Gerar fragmentos do 16S rRNA do fitoplasma]

•# Lembrete: fitoplasmas não são cultiváveis em meio de cultura

# DEMONSTRAÇÃO DA PRESENÇA DE FITOPLASMAS EM TECIDO DE PLANTAS



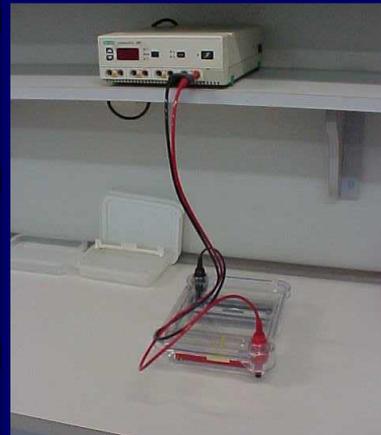
Planta suspeita de infecção



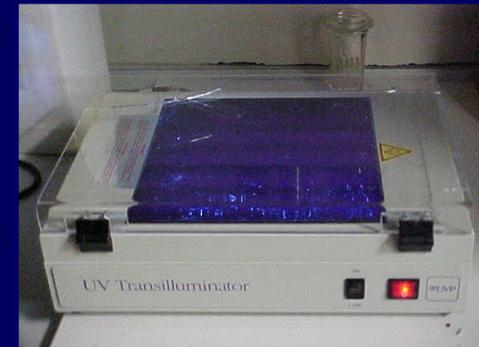
Extração de DNA da planta



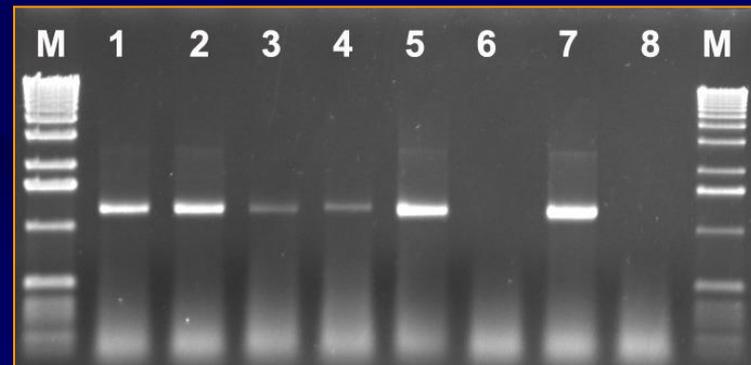
Termociclador : aumento número fitas do 16S rDNA do fitoplasma



Eletroforese p/ detecção fitoplasma



Visualização em de transiluminador UV



RESULTADOS DE PCR