

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

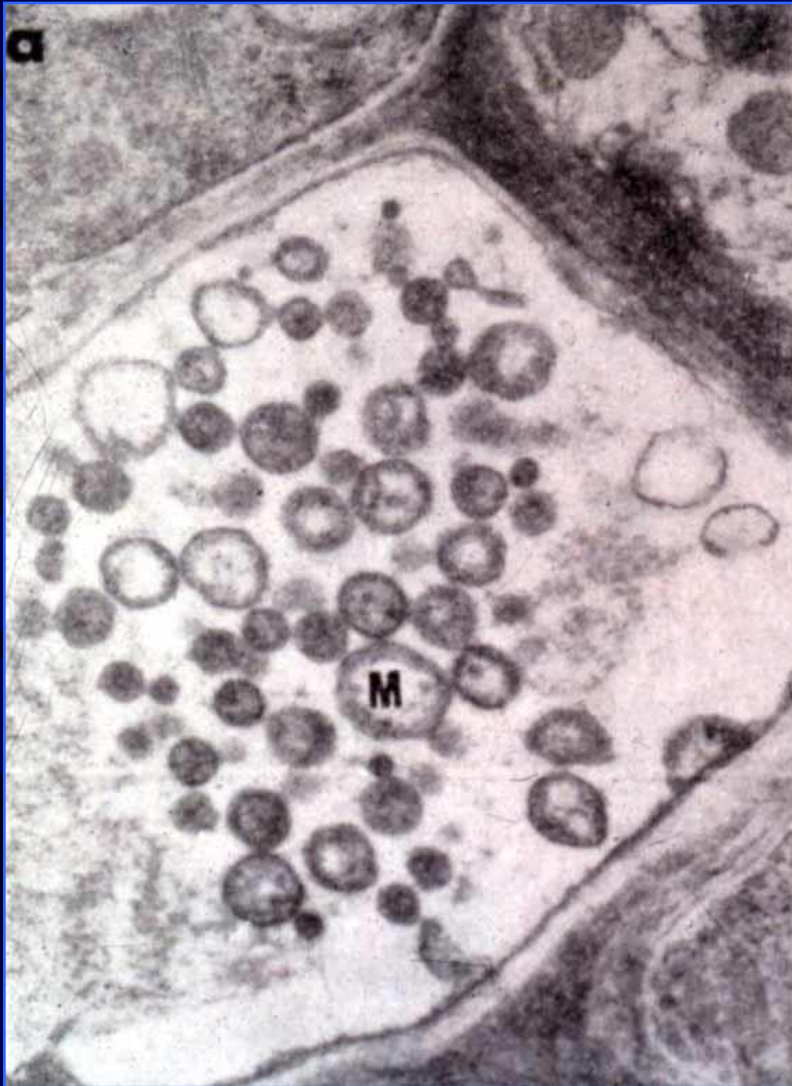
Terminologia

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

FITOPLASMAS: características morfológicas

- **Morfologia e ultraestrutura**

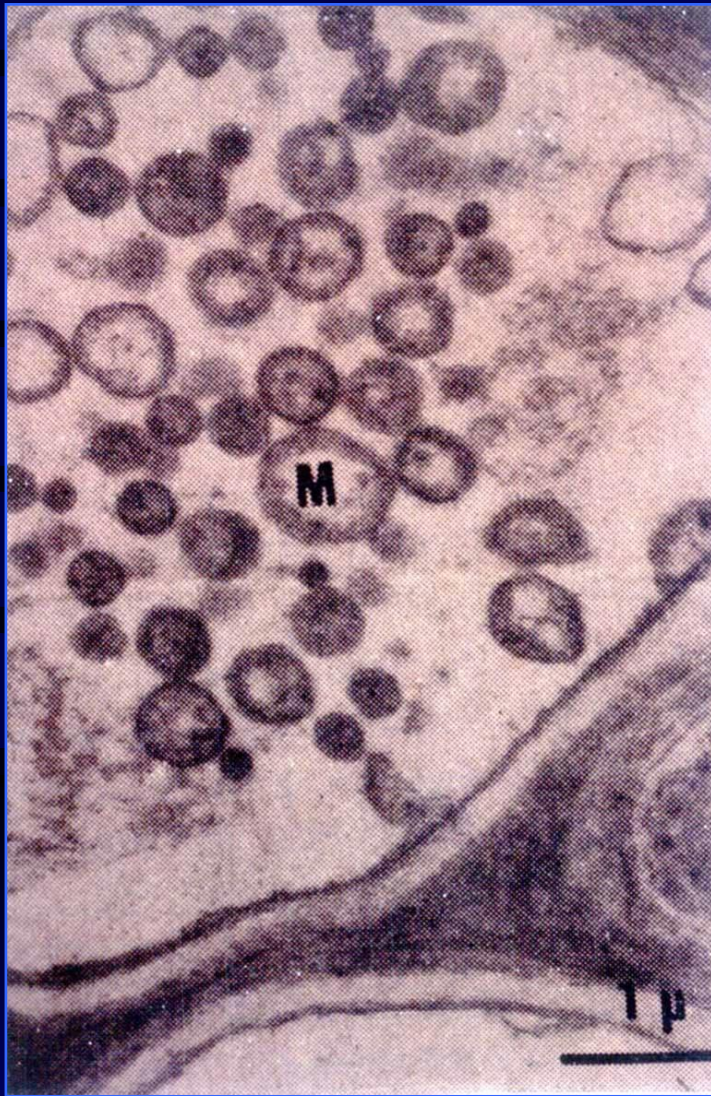
- Procariotos
- Ausência parede celular
- Membrana celular envolve protoplasma
- Pleomorfismo: ausência de forma definida
- Dimensão: variável 0,1 a 1,0 μm diâmetro
- Áreas citoplasmáticas grânulos densos
- Regiões citoplasmáticas com filamentos
- Limiar organismos celulares
- Reprodução gemulação/ fissão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



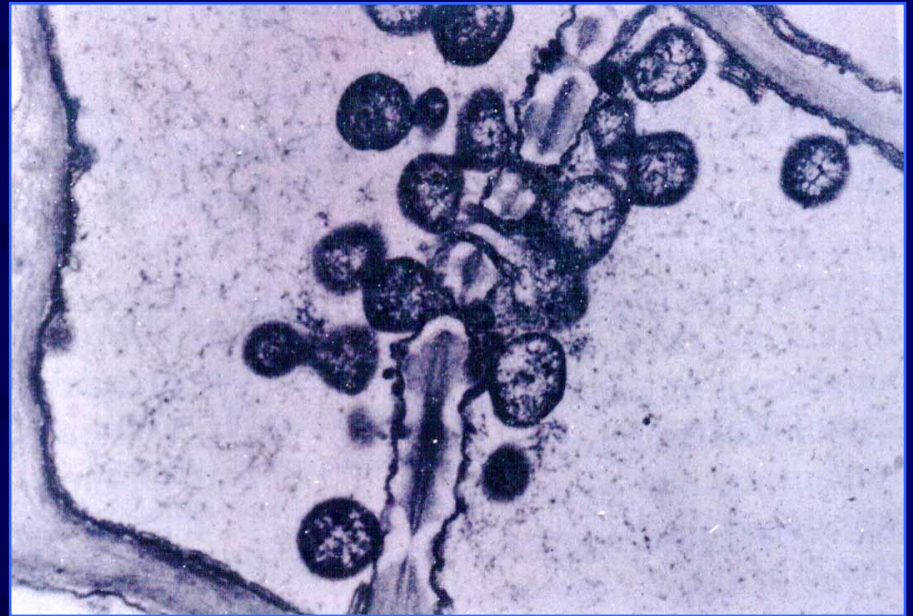
a) Amoreira



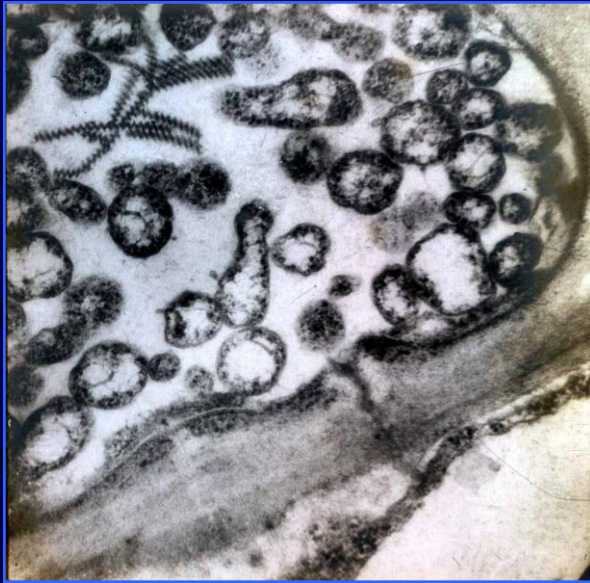
b) Batata



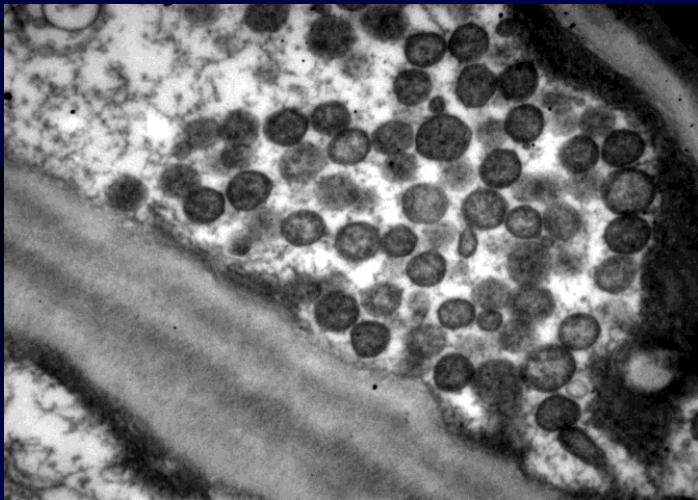
Células de fitoplasma em vasos de floema



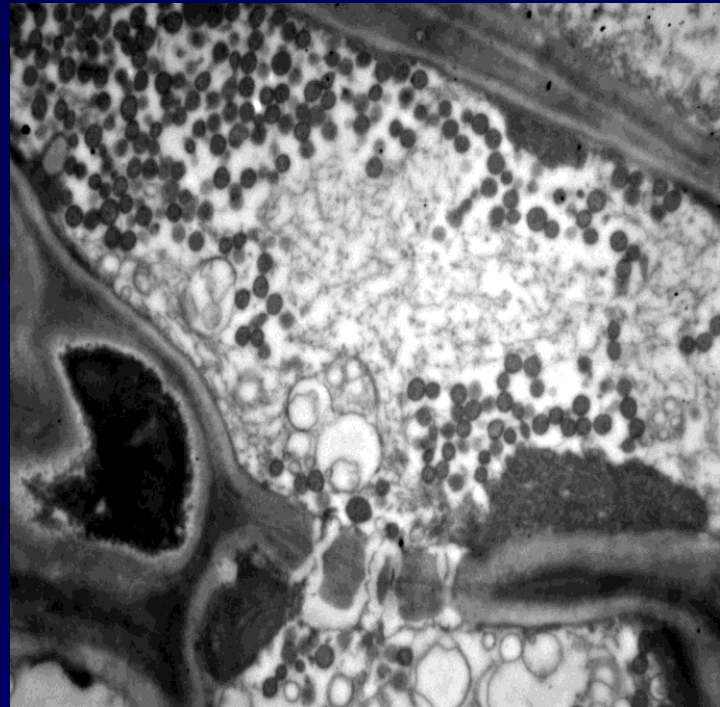
Passagem de células de fitoplasma via plasmodesmas de células de floema



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

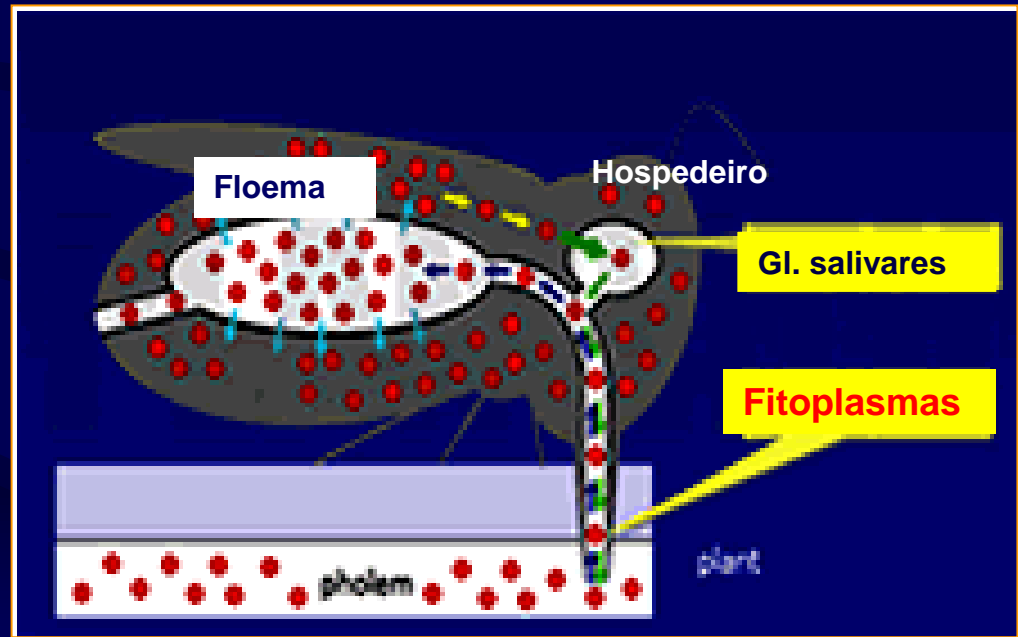


Planta doente



Planta sadia

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



Transmissão por cuscuta



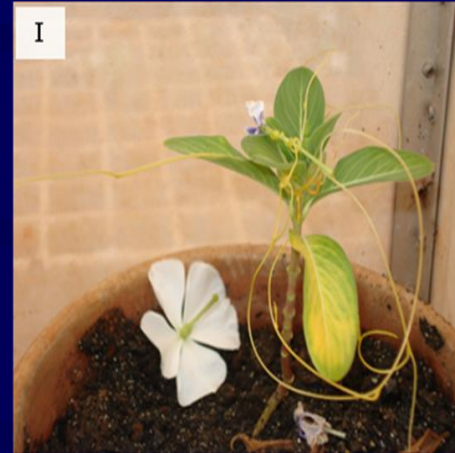
Transmissão por cuscuta



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

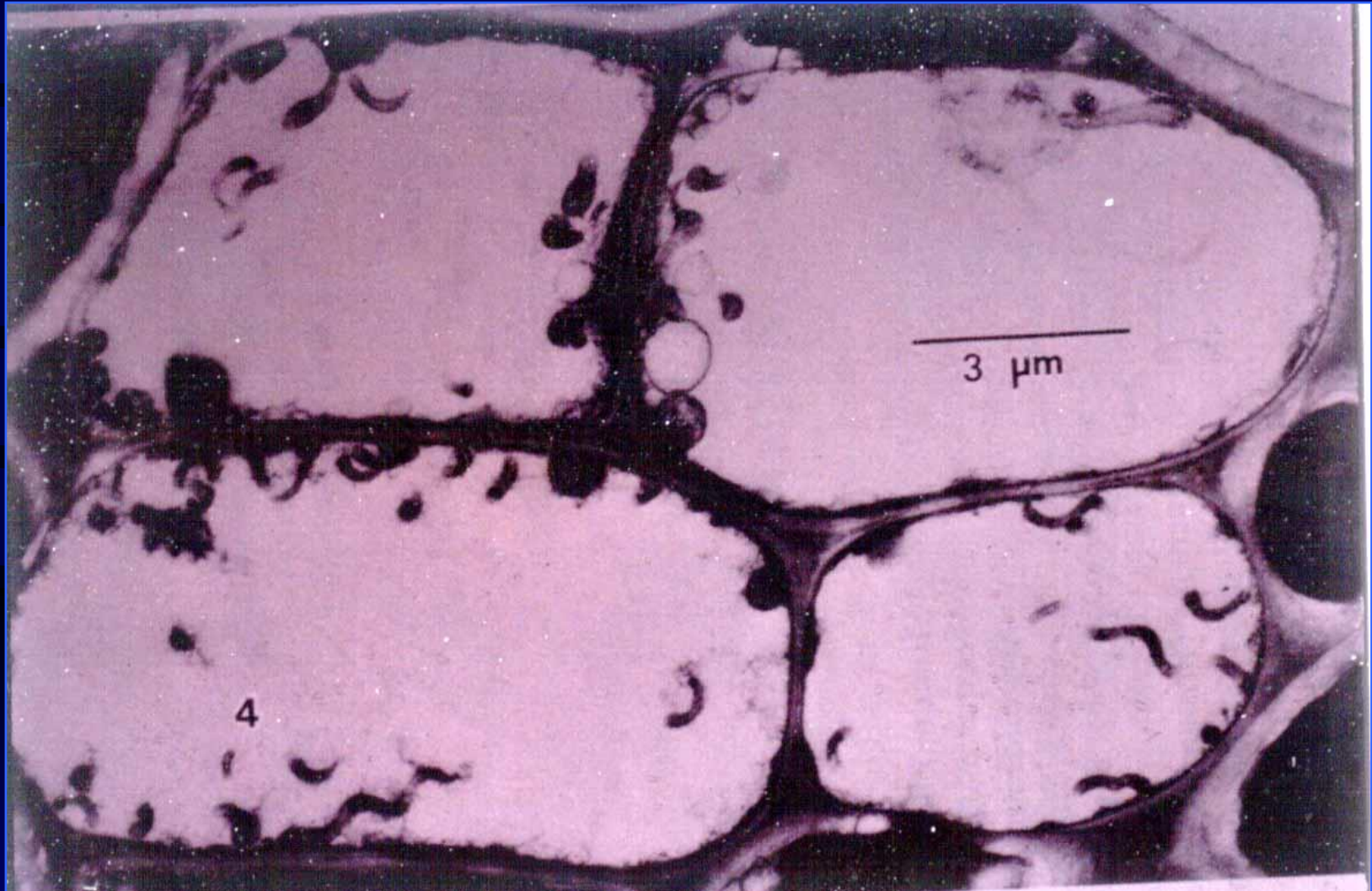
- Descritos em 1972
- Plantas de milho com sintomas de enfezamento
- Observação em microscópio de luz e eletrônico
- Características morfológicas idênticas aos fitoplasmas , porém com forma helicoidal
- Denominação de espiroplasmas



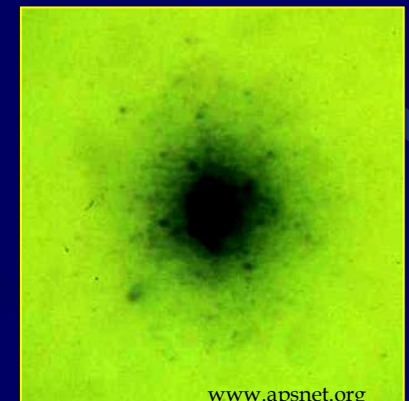
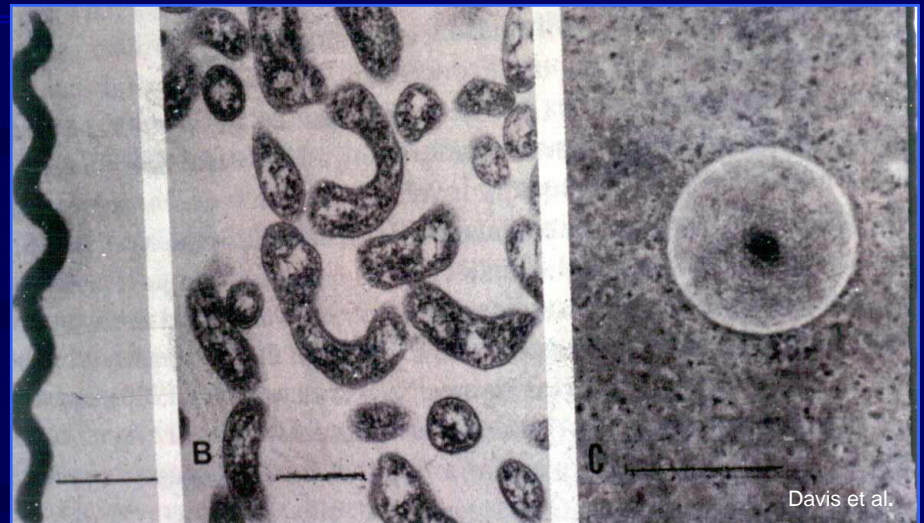
ESPIROPLASMAS: aspectos morfológicos

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

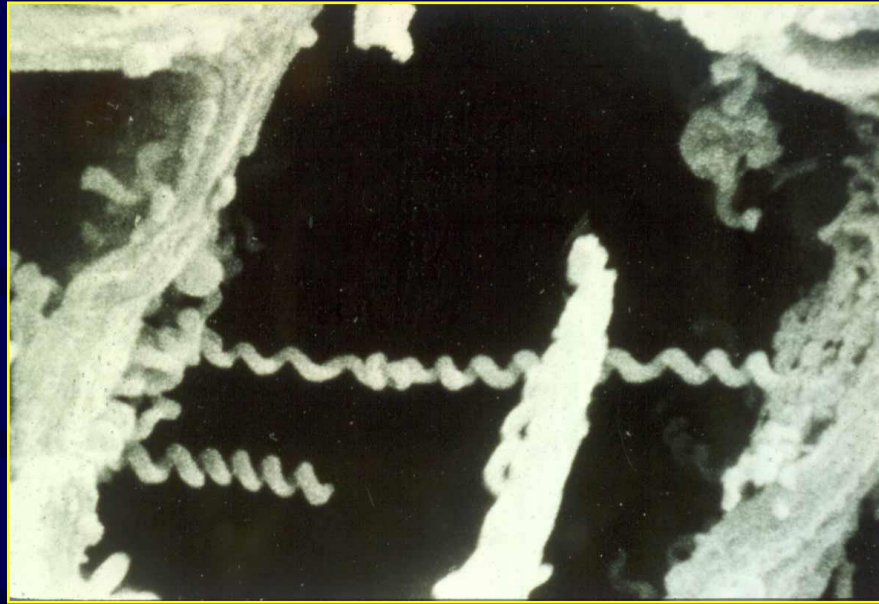
Espiroplasma – Floema de planta de milho



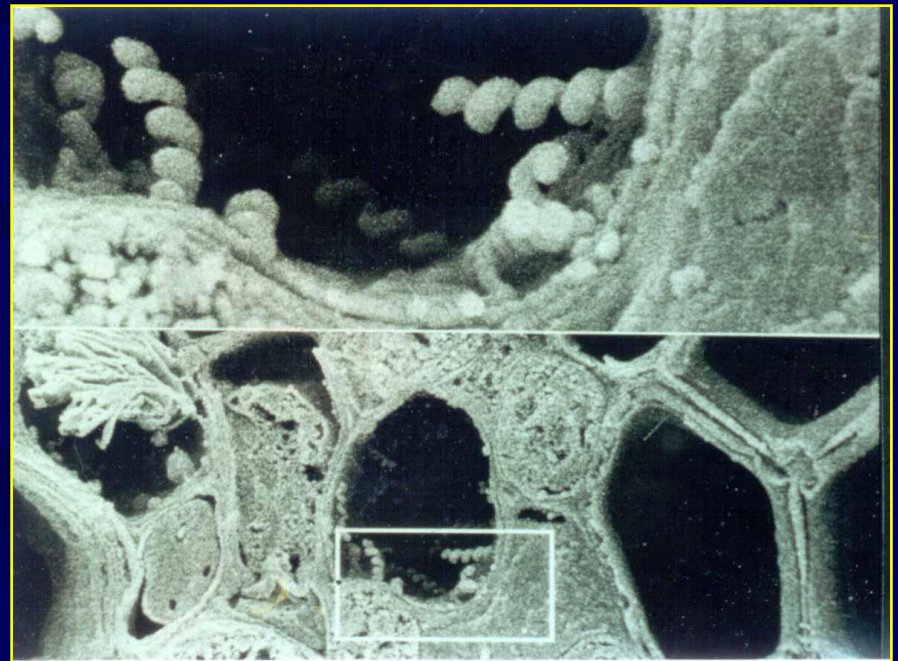
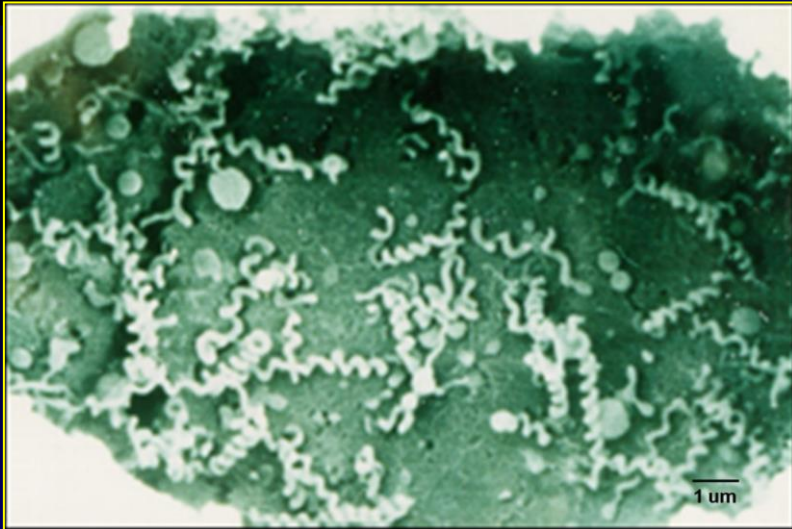
ESPIROPLASMAS



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

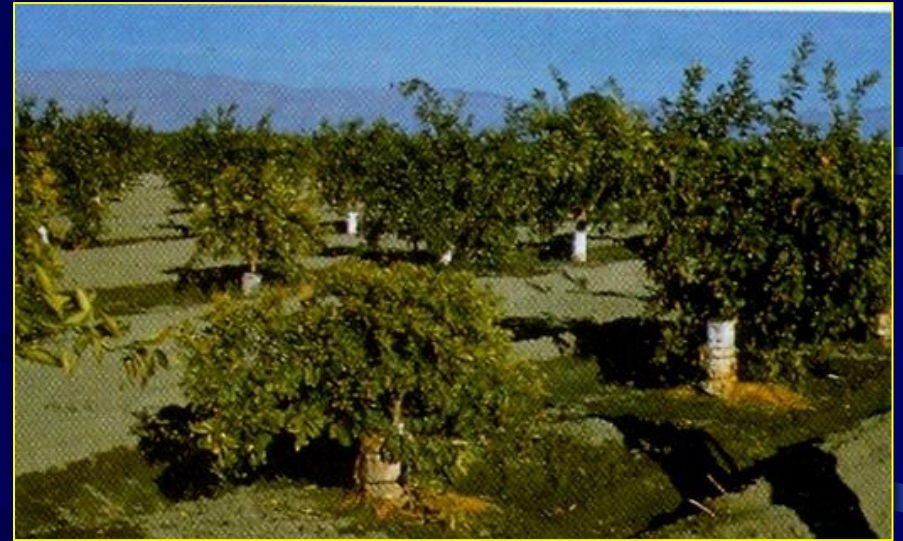
Espiroplasma no Brasil



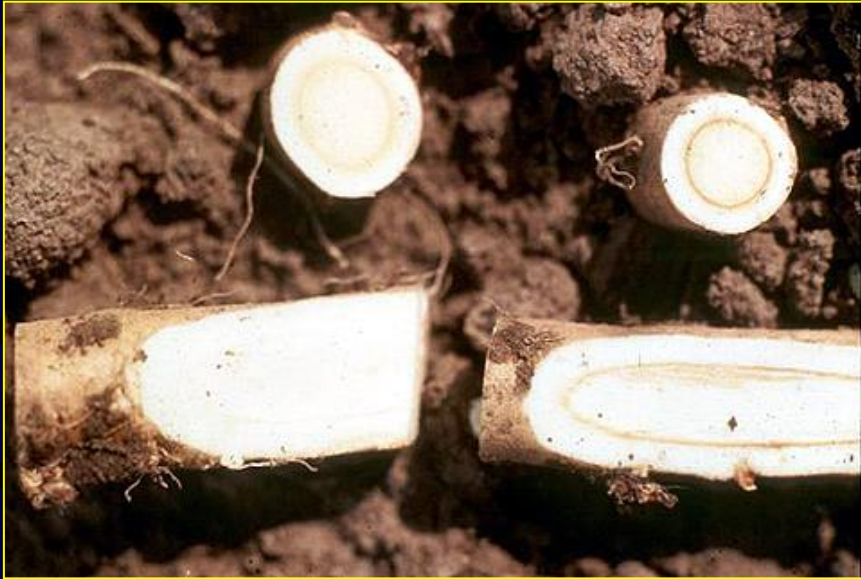
Milho: *Spiroplasma kunkeli*
Enfezamento pálido

Espiroplasma

Stubborn citrus: *Spiroplasma citri*



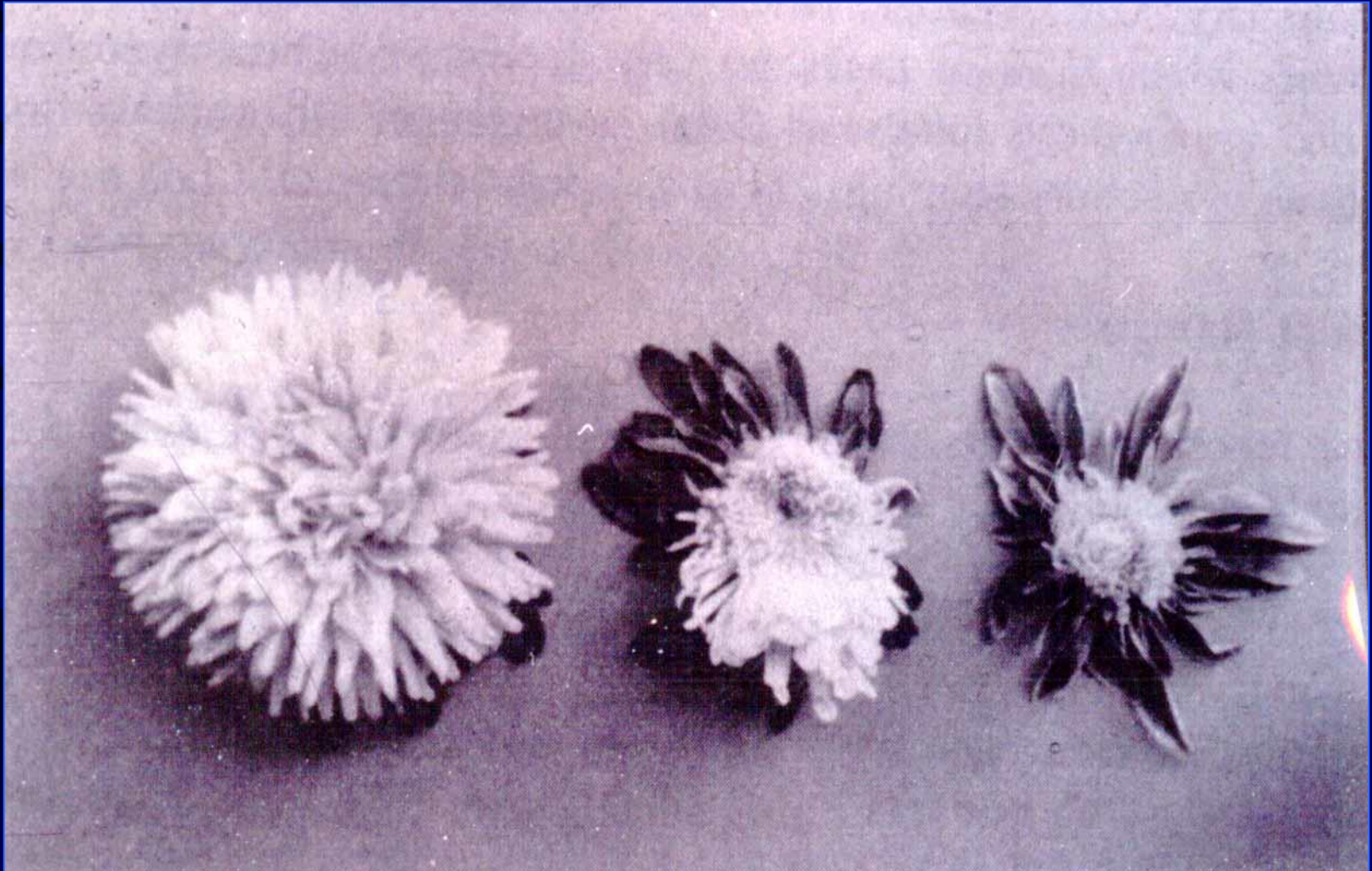
Espiroplasma



Stubborn citros: *Spiroplasma citri*



Sintomatologia de Doenças Associadas aos Fitoplasmas



Flores da Rainha Margarida com filodia

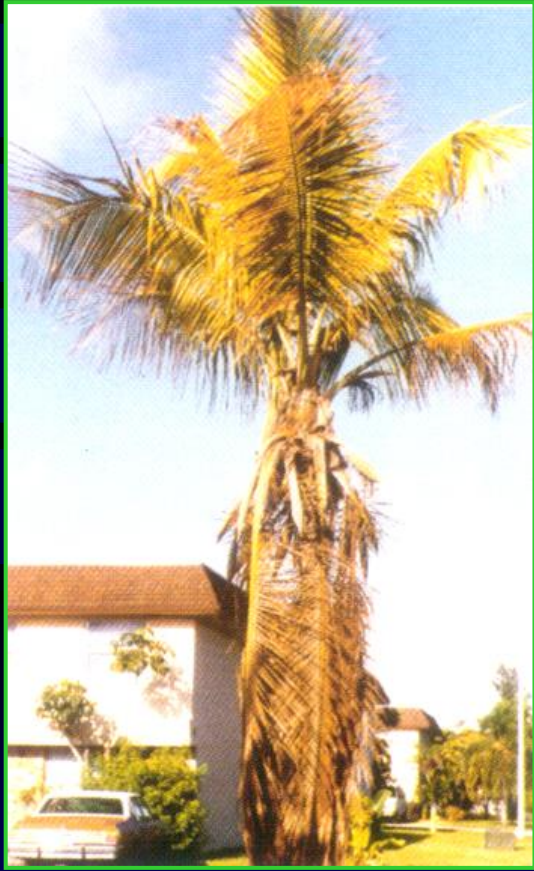




Poinsetia

Bico-de-papagaio





Amarelo letal do coqueiro

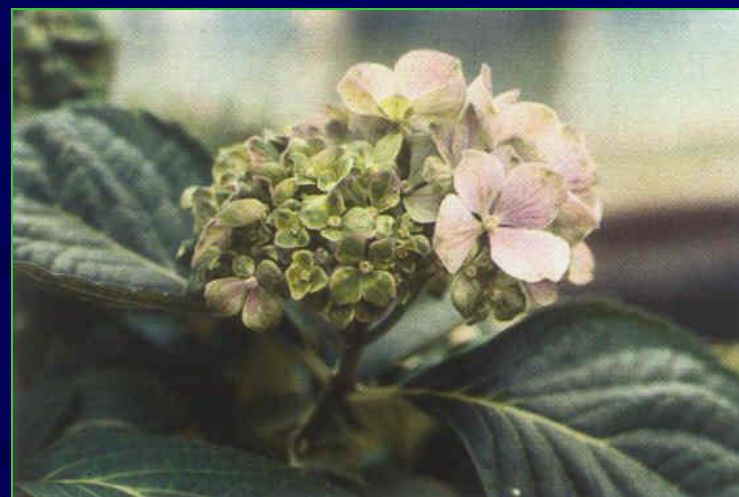


Amarelo da videira





Pétala verde do morangueiro



Virescência da hidrângea



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



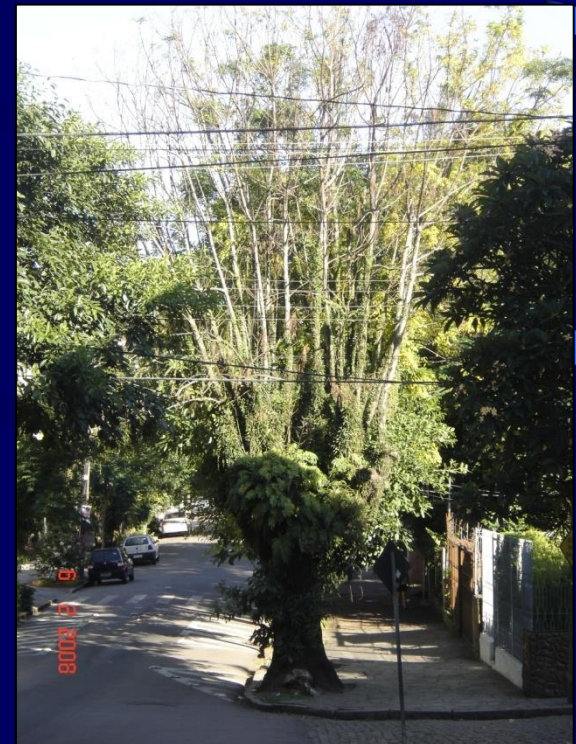
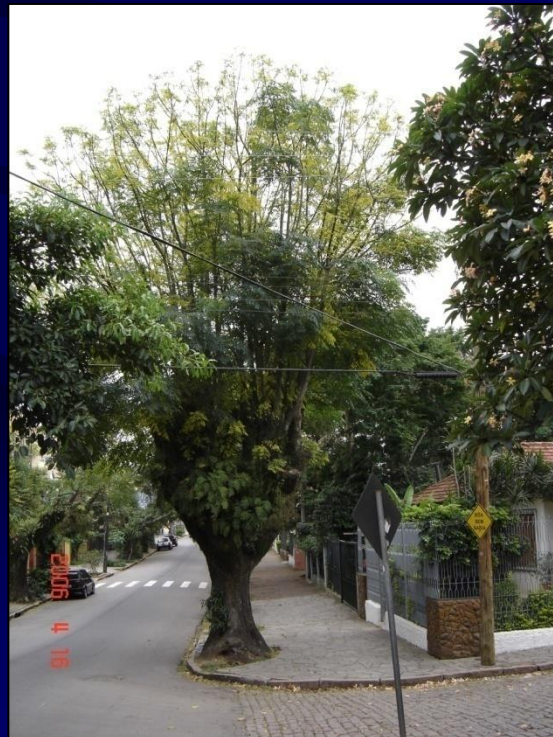
Enfezamento da couve-flor e brócolis



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



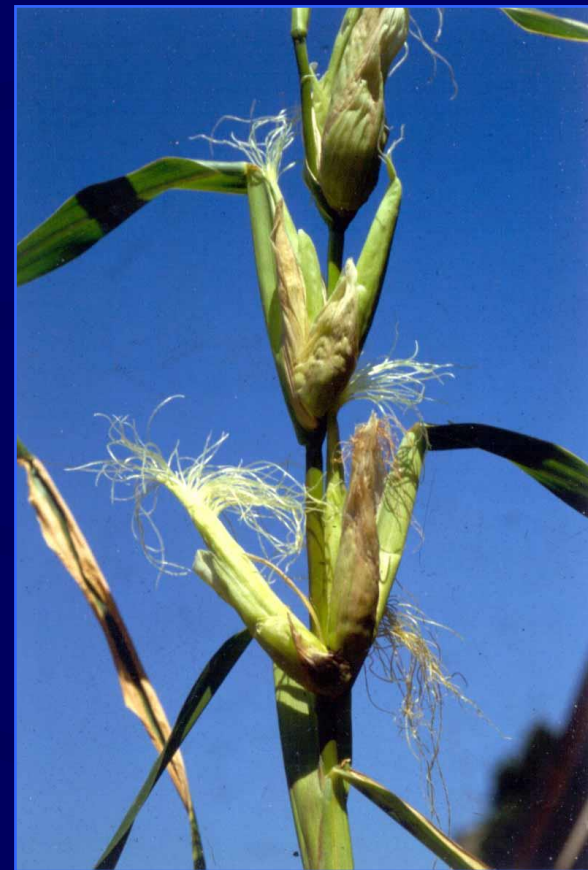
Bougainvillea spectabilis



Superbrotamento da primavera

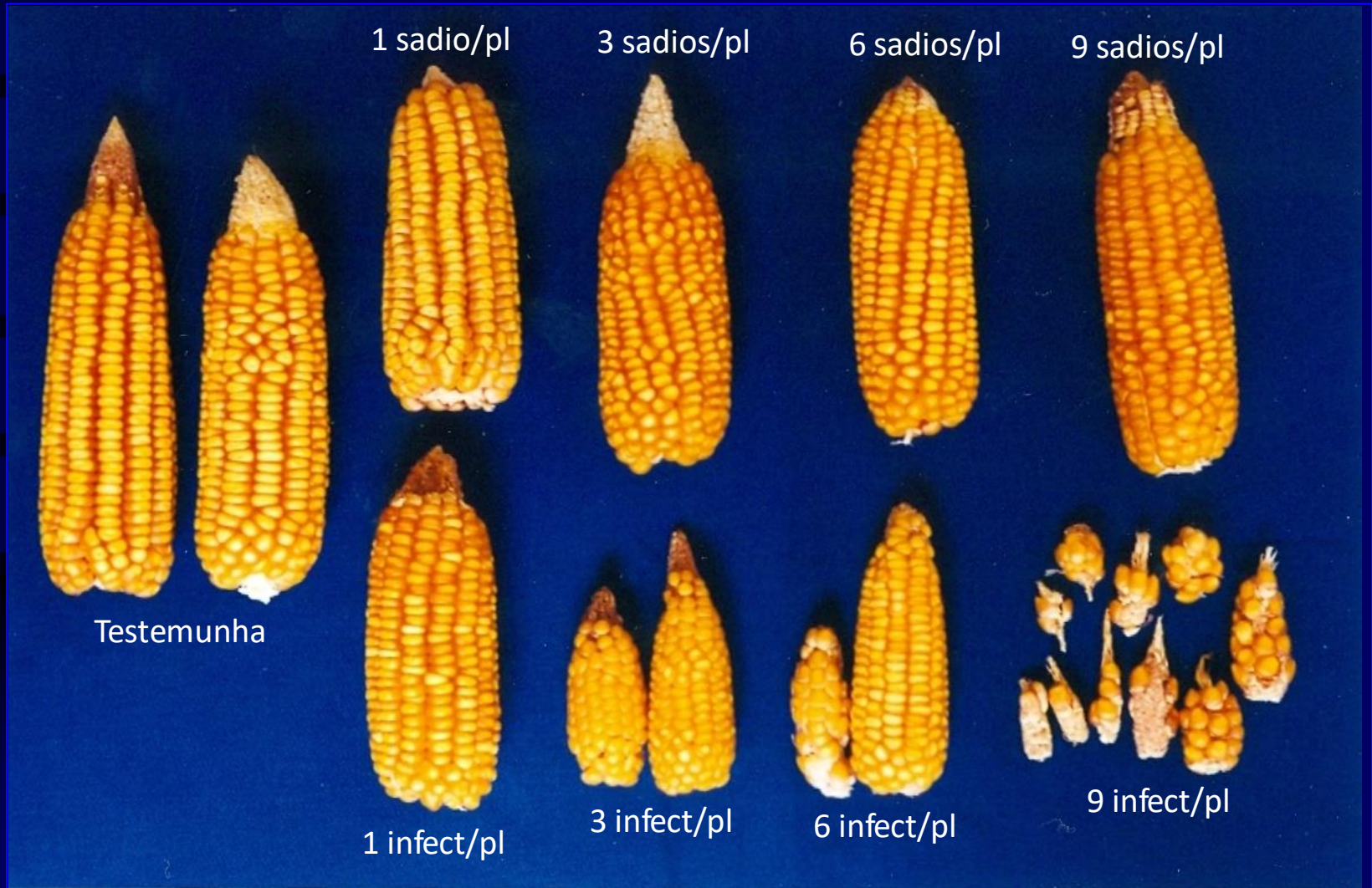


Enfezamento vermelho do milho



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

Enfezamento vermelho do milho

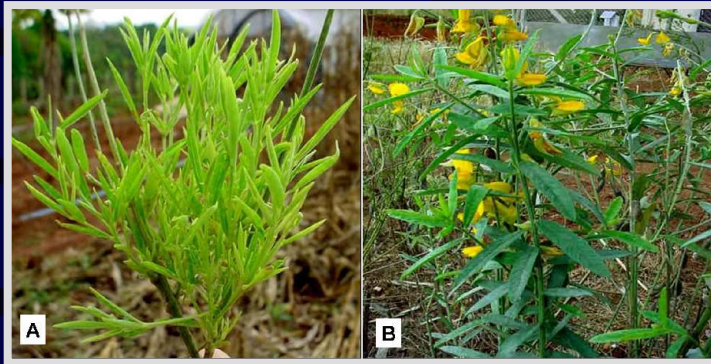


FITOPLASMAS : Diagnose

- **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



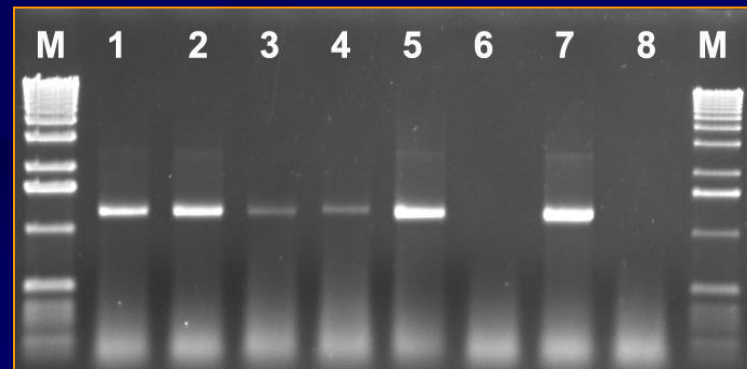
Termociclador : aumento número fitas do 16S rDNA do fitoplasma



Eletroforese p/ detecção fitoplasma



Visualização em de transiluminador UV



RESULTADOS DE PCR