

PCR ANALYSIS OF PHYTOPLASMA ASSOCIATED WITH 'MAIZE BUSHY STUNT' DISEASE IN TROPICAL MAIZE GENOTYPES CULTIVATED IN SOUTHEASTERN BRAZIL

Marilda Augusta Peres¹, Ubiraci Gomes de Paula Lana², Leandro Lopes Loguercio³

¹ Lab. Genômica e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília - UCB, Brasília-DF, Brasil;

²Núcleo de Biologia Aplicada - NBA, EMBRAPA Milho e Sorgo (CNPMS), Sete Lagoas-MG, Brasil

³Depto. de Ciências Biológicas - DCB, Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, Ilhéus-BA, Brasil

The 'maize bushy stunt' (MBS) is a phytoplasma-based disease that has become a serious problem for tropical maize genotypes in Brazil. Universal-modified (16S rDNA) and MBS-specific primer-pairs were used in PCR experiments to verify the possibility of developing a simple and fast procedure to reliably detect MBS phytoplasma among field-sampled maize plants. Overall, the pattern of amplification was not consistently associated with disease phenotypes. Nevertheless, one-round PCR with these primers showed practical usefulness, as it was able to detect the presence of phytoplasma in symptomless plants, which would be otherwise miscored by phenotypic assessment. Interestingly, distinct patterns of amplification by these primers in the same set of samples indicated the simultaneous presence of at least two different phytoplasmas in some symptomatic plants; this was further suggested by direct partial sequencing of the Universal-primed amplicons and comparison with other phytoplasma sequences from GenBank, including a maize entry. Positive amplification was also obtained from embryo-derived tissue-cultured maize plantlets and from symptomatic and symptomless field-collected sorghum plants. The consequences of these findings for maize breeding programs and other research directions are discussed.

key words: MLO, mollicutes, mycoplasma-like organism, plant breeding, yellow disease

Análise de PCR de fitoplasma associado com 'enfazamento vermelho' do milho em genótipos tropicais cultivados no Sudeste do Brasil. O 'enfazamento vermelho' do milho (MBS) é uma doença causada por fitoplasma que se tornou um problema sério para genótipos tropicais de milho no Brasil. Pares de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) 'universais modificados' (16S rDNA) e específicos para MBS foram utilizados em experimentos de reação em cadeia da polimerase (PCR), para verificar a possibilidade de se desenvolver um procedimento simples e rápido para detectar com segurança fitoplasmas associados ao MBS em plantas de milho amostradas do campo. No geral, o padrão de amplificação não foi consistentemente associado com os fenótipos de doença das plantas. Apesar disso, uma única rodada de PCR com esses *primers* mostrou utilidade prática, pois foi capaz de detectar a presença de fitoplasma em plantas sem sintomas da doença, as quais teriam sido erroneamente classificadas apenas por avaliação fenotípica. Interessantemente, padrões distintos de amplificação para os dois pares de *primers*, a partir de um mesmo grupo de amostras, sugeriram a presença simultânea de pelo menos dois fitoplasmas diferentes em algumas das plantas com sintomas; isto foi reforçado por seqüenciamento parcial, diretamente a partir dos produtos de amplificação do par de *primers* universais-modificados, seguido de comparação com outras seqüências semelhantes do *GenBank*, que incluíram um acesso descrito para milho. Amplificação positiva também foi obtida a partir de plântulas de milho derivadas de embriões produzidos por cultura de tecidos, bem como de plantas de sorgo coletadas do campo, com e sem sintomas de enfazamento vermelho. As conseqüências desses resultados foram discutidas nos contextos de programas de melhoramento de milho e de futuras linhas de investigação.

Palavras-chave: Mollicutes, fitoplasma, enfazamento do milho