

SCHMITZ, J. F.^{1,5}; MOMBELLI, J. S.¹; MUNIZ, M. F. B.³; OLIVEIRA, A. M. R.²; SOUZA JÚNIOR, I. T.¹; TELÓ, P. S.⁴; DUARTE, V.^{1,5}
 UFRGS¹, UERGS², UFSM³, AGRONÔMICA⁴, Bolsista CNPq⁵
 Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre – RS. jacqueline.schmitz@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

A detecção de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) e *X. oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc), agentes causais do crestamento bacteriano e da estria bacteriana do arroz, respectivamente, pragas quarentenárias para o Brasil, em sementes, requer ferramenta diagnóstica específica e confiável. Um fator complicador no diagnóstico desses patógenos é a existência de reações cruzadas com *Xanthomonas* sp. associada as sementes. Uma das ferramentas para averiguar a similaridade filogenética e a diversidade intra e interespecífica de fitobactérias é a ERIC-PCR, assim como o antibiograma pode determinar a sensibilidade das mesmas. Portanto, este trabalho teve por objetivo caracterizar 33 isolados de xantomonas de sementes de arroz do Brasil (SC, RR, RS), Uruguai e Argentina, através da ERIC-PCR e antibiograma.

MATERIAL E MÉTODOS

De um total de 339 isolados bacterianos obtidos, foram escolhidos 33 isolados segundo os seguintes critérios: diferentes origens e cultivares, presença de xantomonadina e positivos com primers para a confirmação do gênero. Após, esses isolados foram analisados através de sequências repetitivas de consenso intergênico (ERIC-PCR). DNA de Xoo, Xoc, e *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) foi incluído para comparação. A presença dos produtos de amplificação foi detectada através da eletroforese em gel de agarose 2% e fotodocumentada, e os perfis foram analisados pelo programa NTSYS-pc (F. J. ROHLF, 1998). Os mesmos isolados foram testados frente a diferentes antibióticos.



Figura 1. Gel de agarose com amplificação em 1518 pb para espécies de *Xanthomonas*.

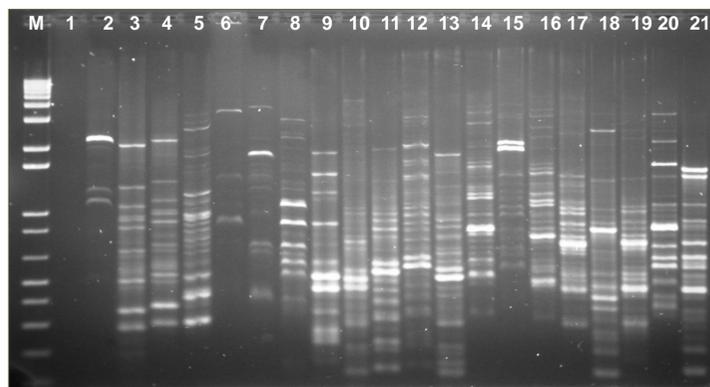


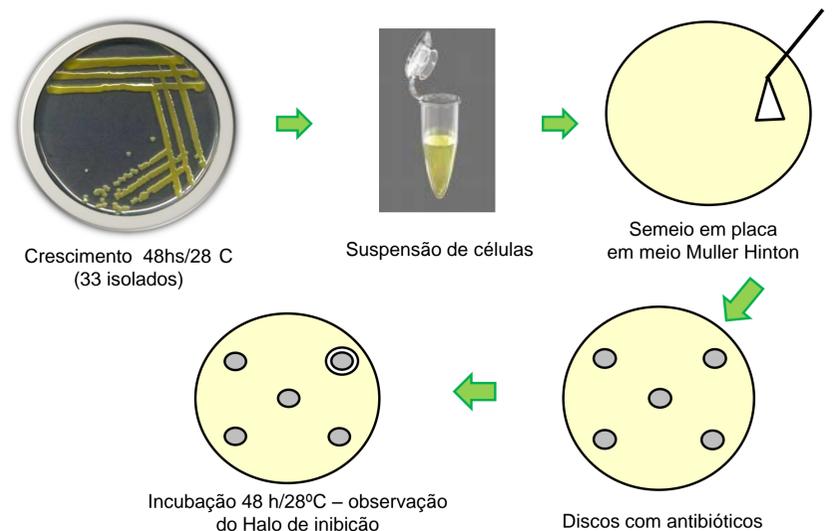
Figura 2. Produtos da amplificação gerados por ERIC-PCR a partir do DNA genômico de diferentes isolados de *Xanthomonas* sp. (M) Ladder 1 kbPlus; (1) água; (2) Xcc; (3) Xoo; (4) Xoo; (5) Xoc; (6-21) isolados de arroz.

ERIC-PCR

Antibiograma

Antibióticos

Clindamicina (2 µg), Cloranfenicol (30 µg), Eritromicina (15 µg), Estreptomicina (10 µg), Norfloxacina (10 µg), Novobiocina (5 µg), Oxacilina (1 µg), Rifampicina (5 µg), Sulfonamida (300 µg), Tetraciclina (30 µg), Vancomicina (30 µg)



RESULTADOS E DISCUSSÃO

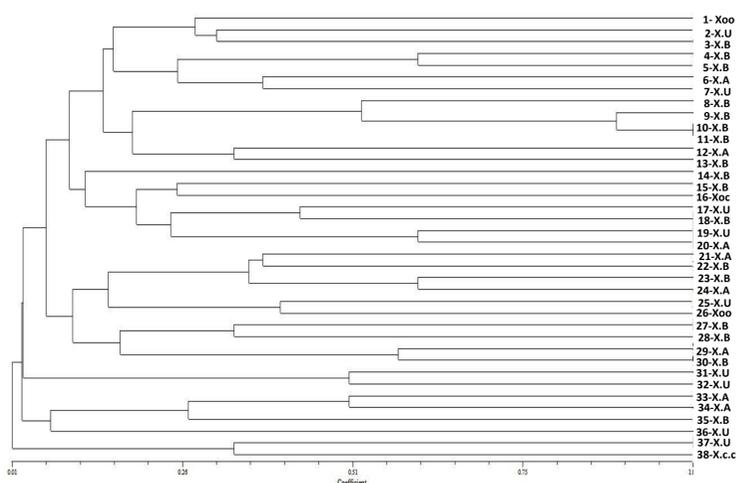


Figura 3. Dendrograma de Similaridade obtido a partir da análise do agrupamento de isolados de *Xanthomonas* sp. de sementes de arroz.

➤ O grupo de isolados de *Xanthomonas* é distinto de Xoo, Xoc e Xcc.

➤ Os únicos três isolados que apresentaram mais de 75% de similaridade foram obtidos de amostras do mesmo local (RS) e cultivar (IRGA 424).

➤ A maioria dos isolados de *Xanthomonas* é sensível aos antibióticos cloranfenicol (85%), norfloxacina (92%) e tetraciclina (95%).

➤ Há grande variabilidade na sensibilidade aos demais antibióticos entre os isolados de *Xanthomonas*.

➤ O antibiograma possibilitou agrupar os isolados em 17 grupos, mesmo que oito destes apresentaram apenas um isolado.

➤ Os dados mostram que a sensibilidade a antibióticos é aleatória entre os grupos ERIC, não sendo possível estabelecer correlação entre genótipo e resistência a antibióticos. Há a necessidade de obter antibiograma de estirpes de Xo para saber se tais antibióticos podem ser usados para evitar a contaminação do meio de cultura para o isolamento de Xoo e Xoc da maioria das xantomonas saprófitas.

CONCLUSÕES

➤ A alta variabilidade, genética e da sensibilidade a antibióticos, é equivalente entre os isolados, independente do local de origem ou cultivar, indicando a possibilidade de várias espécies de *Xanthomonas*.

➤ Diante dos resultados obtidos, observa-se a eficiência de alguns antibióticos em inibir, *in vitro*, o crescimento de isolados de xantomonas saprófitas.

➤ Os antibióticos cloranfenicol, norfloxacina e tetraciclina são candidatos a comporem meios de cultura seletivos para o isolamento de *Xanthomonas oryzae* de sementes de arroz.



Figura 4. Antibiograma de isolados de *Xanthomonas* sp. oriundos de sementes de arroz