

# ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE ISOLAMENTO DE *Xanthomonas sp* DE SEMENTES DE ARROZ

Ana Paula Klaus Damasceno<sup>1,2,3</sup>; Letícia Xavier<sup>1,2,3</sup>; Melissa Remlinger<sup>1,2</sup>; Marieli Machado<sup>1,2,3</sup>; Patrícia S. Teló<sup>4</sup>; Marisa Dal Bosco<sup>4</sup>; Valmir Duarte<sup>5</sup>; Andréia Mara Rotta de Oliveira<sup>1,6</sup>. <sup>1</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS); <sup>2</sup>Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (UERGS); <sup>3</sup>Bolsista CNPq; <sup>4</sup>Agrônoma Lab. de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria; <sup>5</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); <sup>6</sup>Orientadora.

E-mail: [ana-damasceno@hotmail.com](mailto:ana-damasceno@hotmail.com); [andreiafito@yahoo.com.br](mailto:andreiafito@yahoo.com.br)

## INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Xanthomonas* atualmente são agrupadas em 27 espécies, tipicamente fitopatogênicas, que infectam muitas culturas economicamente importantes. *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo) e *X. oryzae pv. oryzicola* (Xoc) são patógenos associados e transmitidos pela semente de arroz, e reconhecidas mundialmente como os agentes causadores da queima bacteriana (Xoo) e estria bacteriana (Xoc), respectivamente. No Brasil Xoo e Xoc são classificadas como pragas quarentenárias A1 (ausente no país), necessitando o uso de métodos de detecção eficientes em sementes importadas, para impedir a entrada dessas bactérias em áreas orizícolas.

## OBJETIVO

O estudo tem por objetivo avaliar diferentes metodologias de isolamento de *Xanthomonas sp.* em sementes de arroz, como estratégia de detecção de Xoo e Xoc.

## METODOLOGIA

Foram utilizadas sete amostras de sementes de arroz híbrido, provenientes da Argentina e Uruguai, as quais foram imersas em solução tampão fosfato (STF), inteiras e/ou trituradas, nos tempos de 0, 30 min, 90 min, 120 min, 240 min, 360 min e 24 h, com agitação a 200rpm. Decorrido os tempos descritos acima, realizou-se diluições seriadas do sobrenadante e alíquotas de 100 µL foram espalhadas em placas de petri contendo meio PSA e incubadas até 72 horas a 28 °C ± 2 °C. Nas colônias Gram negativas, amarelas típicas de *Xanthomonas sp.*, determinou-se a produção do pigmento xantomonadina, pigmento este que é característico do gênero *Xanthomonas*. A presença de Xoo e Xoc será confirmada por PCR com primers específicos para estes patógenos.

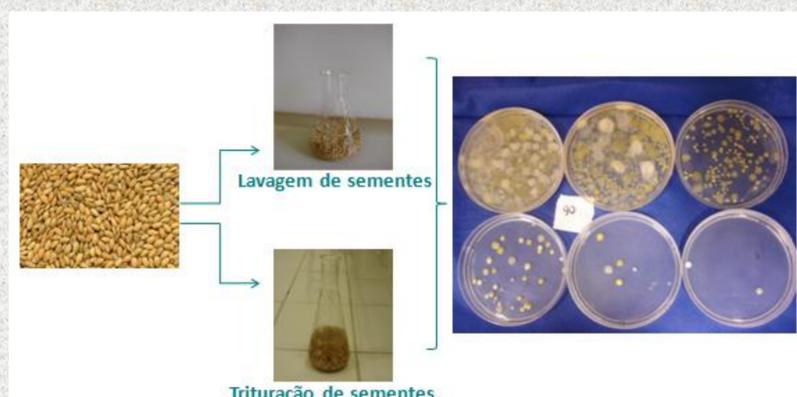


Fig 01: Representação esquemática dos processos de isolamento.

## RESULTADOS

- Das 266 UFCs/mL típicas de *Xanthomonas sp.*, em torno de 63% foram obtidas no processo de trituração das sementes;
- Entre os tempos de permanência das sementes na STF analisados, 90 e 120 min, foram o que permitiram obter o maior número de colônias, nos dois processos analisados (sementes inteiras ou trituradas);
- O tempo ótimo de incubação das placas para o aparecimento de colônias na temperatura estudada foi de 48 horas;
- O teste de xantomonadina indicou que dos 266 isolados, 157 foram positivos para a produção de xantomonadina indicando pertencerem ao gênero *Xanthomonas*. Destes, 88 foram obtidos pelo método de trituração de sementes e 20 foram negativos.

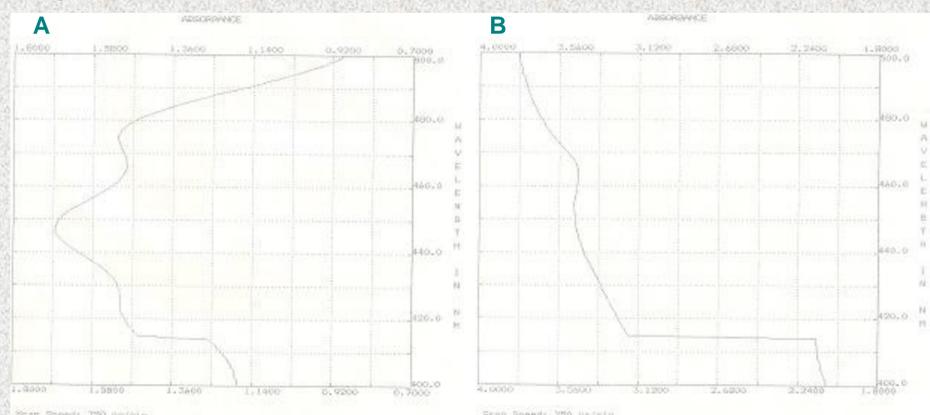


Fig 02: A) Curva de absorvância considerada típica para o pigmento xantomonadina; B) Curva de absorvância considerada negativa para o pigmento xantomonadina

## CONCLUSÕES

Considerando os métodos avaliados para o isolamento de *Xanthomonas sp* a partir de sementes de arroz, conclui-se:

- 1) Para o sucesso no isolamento de *Xanthomonas* o tempo mínimo de permanência das sementes em tampão fosfato é de 90 min;
- 2) A trituração de sementes permite o isolamento de um número maior de isolados de *Xanthomonas*, do que sementes inteiras;
- 3) O aparecimento de outras colônias com pigmentação amarela no isolamento em meio de cultura, podem interferir na seleção de *Xanthomonas sp.*