

## ATIVIDADE BACTERIOCINOGENICA ENTRE ISOLAMENTOS DE *Xanthomonas campestris* pv. *arracaciae*<sup>1</sup>

Marita Francisca de Siqueira<sup>2</sup>  
Reginaldo da Silva Romeiro<sup>2</sup>

Bacteriocinas têm sido conceituadas (9, 16) como substâncias, geralmente de natureza protéica, produzidas por certas bactérias e que são capazes de inibir o crescimento de outras bactérias taxonomicamente afins com as produtoras. O estudo de bacteriocinas teve início em 1925, quando se constatou que um isolamento de *Escherichia coli* era capaz de produzir uma proteína altamente específica e inibitória de outros isolamentos da mesma espécie, que recebeu o nome de colicina (12). Embora possuam atividade antimicrobiana (1, 9), as bacteriocinas não se enquadram no conceito clássico de antibióticos, por serem de natureza protéica e possuírem elevada especificidade biológica (9, 12, 16, 18).

No tocante ao significado biológico da produção de bacteriocinas, entende VIDAVER (18), assim como BROCK (3) e SCORTICHINI (15), que elas podem proporcionar ao clone bacteriano produtor uma vantagem seletiva adicional, uma vez que, na maioria das situações, os membros do clone tendem a permanecer juntos no que se convencionou denominar nicho ecológico, conseguindo reduzir a habilidade de outras bactérias taxonomicamente afins de se multiplicarem naquele nicho ecológico ou em sua vizinhança. Geralmente bacteriocinas são codificadas por gens localizados em plamídeos (5, 16). O modo de ação das bacteriocinas ainda não se encontra totalmente elucidado. A título de exemplo, Agrocina 84,

---

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 26.10.1998.

<sup>2</sup> Departamento de Fitopatologia da UFV. 36571-000 Viçosa-MG, Brasil.

uma bacteriocina produzida por certas estirpes de *Agrobacterium radiobacter* e ativa contra alguns isolamentos de *A. tumefaciens* (8), inibe a síntese de DNA na célula suscetível.

Em Fitopatologia, o estudo de bacteriocinas assume importância por várias razões. Em estudos de biologia celular, os gens que codificam para produção podem ser utilizados como marcadores genéticos (11). Produção e, ou, sensibilidade a bacteriocinas podem ser úteis em estudos taxonômicos (18). Uso potencial no controle de fitobacterioses (6, 8, 13, 18) e estudos filogenéticos podem ser conduzidos com base na produção e, ou, sensibilidade a bacteriocinas (4).

No presente trabalho procurou-se detectar a produção e, ou, a sensibilidade a bacteriocinas por uma população de isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *arracaciae*, sendo este o primeiro relato de produção de bacteriocinas pelo patovar em estudo.

Os 24 isolamentos de *X. campestris* pv. *arracaciae* foram obtidos de clones de batata-baroa, mantidos rotineiramente em campos experimentais da Universidade Federal de Viçosa. O isolamento foi feito conforme metodologia de rotina (6, 10) em meio 523 de KADO e HESKETT (7), sendo este mesmo meio de cultura empregado para manutenção das culturas pelo método de repicagem tubo a tubo (17). A temperatura de incubação foi padronizada em 28°C.

Para se testarem a produção e a sensibilidade a bacteriocinas utilizou-se a técnica preconizada por SCHAAD (14). As culturas a serem testadas como produtoras foram cultivadas em meio 523 líquido (7), por 24 horas, e semeadas com alça de repicagem em placas de Petri contendo meio sólido, por ponto, de modo a se obterem colônias equidistantes na superfície do meio. Após incubação por 24 horas, as placas foram abertas sob luz ultravioleta (254nm), por 20 minutos, para morte das células das colônias. Sobre cada placa verteram-se então 5 ml de meio 523 semi-sólido fundente (48°C), aos quais previamente foram incorporados 100 µl da cultura a ser testada como indicadora. Após a incubação por um período adicional de 24 horas, as placas foram inspecionadas para a constatação da presença de halos de inibição (Figura 1).

Dentre todos os isolamentos testados, apenas cinco comportaram-se como produtores e somente dois como indicadores (Figura 2). Os bioensaios foram conduzidos de forma padronizada, sem serem realizados testes de variáveis passíveis de influir de alguma forma nos processos de síntese e sensibilidade a bacteriocinas. De fato, cabe lembrar a esta altura que a detecção da atividade bacteriocinogênica é função de fatores como meio de cultura utilizado e condições de cultivo dos isolamentos (regime de luz,

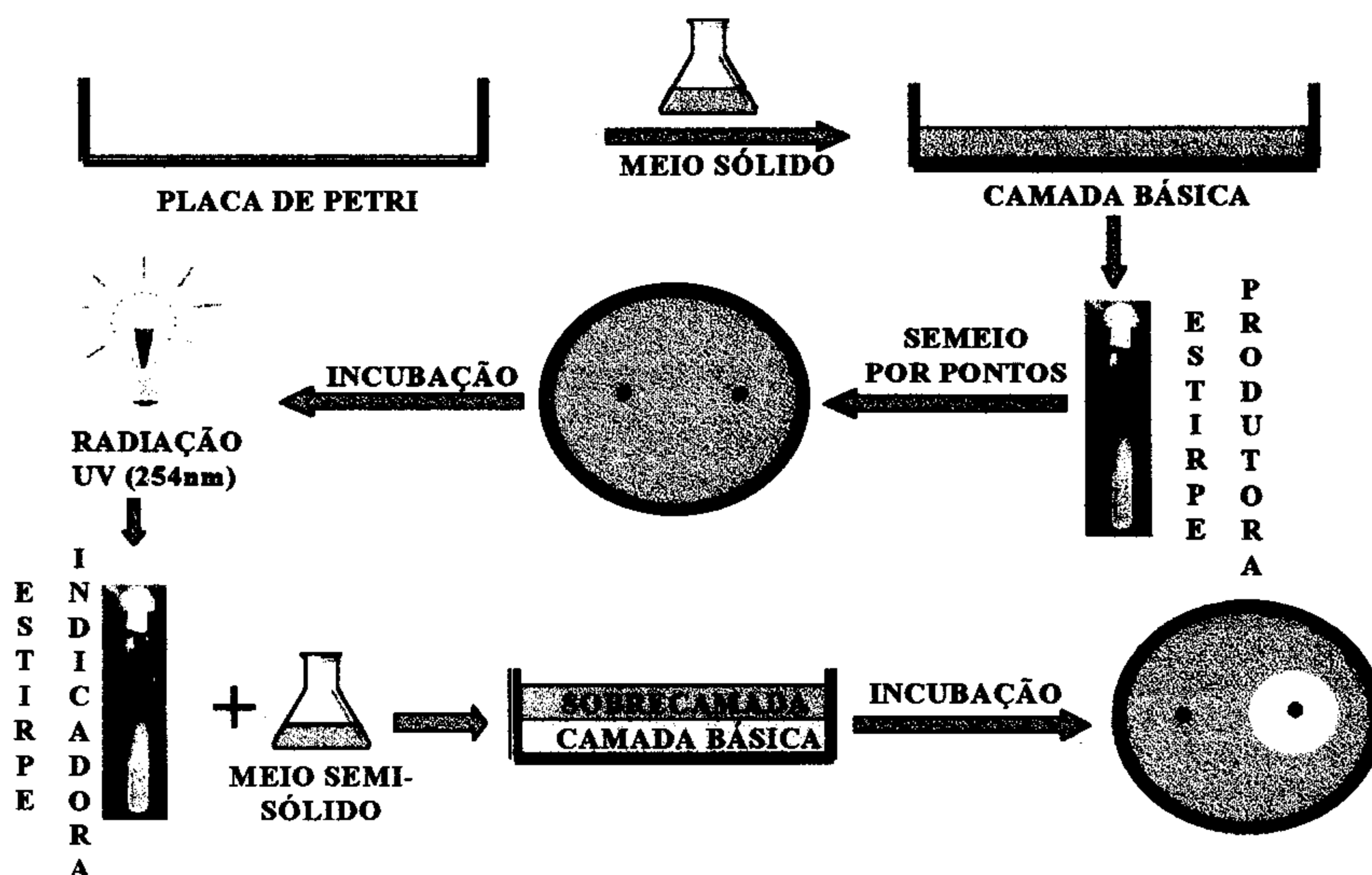
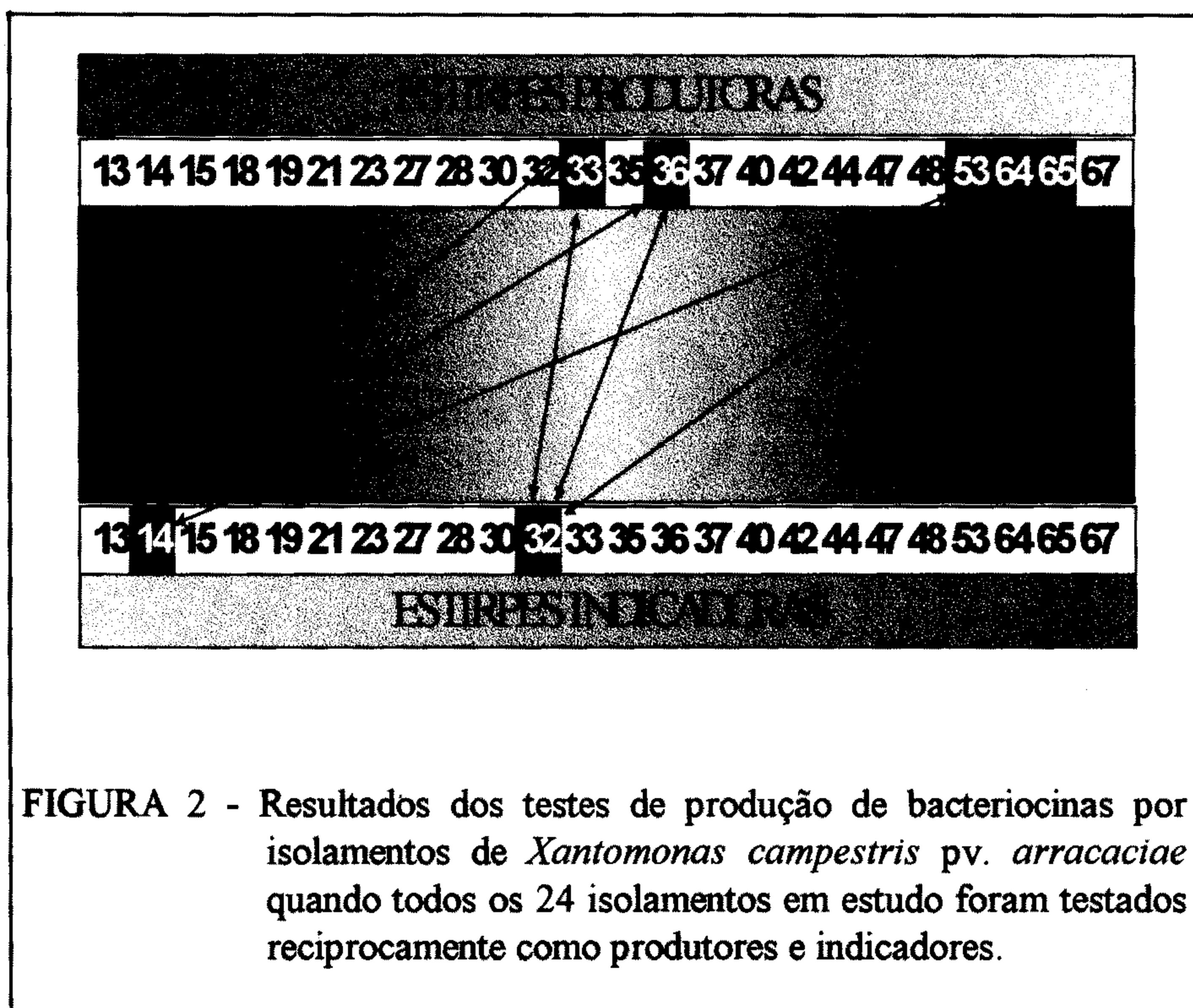


FIGURA 1 – Esquema da metodologia empregada para o teste de produção de bacteriocinas.

umidade e temperatura) e da indicadora utilizada, só se podendo afirmar, com base nos dados obtidos, que determinado isolamento produz ou não bacteriocina sob a condição particularmente testada (18). Assim, no presente trabalho pode-se afirmar que a maioria dos isolamentos não produziu bacteriocinas sob as condições aqui descritas. Mais estudos carecem de ser conduzidos, principalmente variando as condições e a metodologia utilizadas, bem como incluindo nos testes maior número de isolamentos.

Os resultados obtidos demonstram, pela primeira vez, a produção de bacteriocinas por isolamentos de *Xanthomonas campestris* pv. *arracaciae*. O registro deste fato por si mesmo se reveste de grande importância, haja vista a potencialidade do uso de bacteriocinas em pesquisa, tanto básica como aplicada, em Bacteriologia (4, 6, 8, 11, 13, 18).

Por fim, sempre que se sabe da produção de bacteriocinas por isolamentos de determinada fitobactéria, tem-se por implícito que a possibilidade de uso do fenômeno para fins de controle biológico não deve ser descartada (1, 2, 5, 8, 13)



## SUMMARY

### (BACTERIOCINOGENIC ACTIVITY AMONG ISOLATES OF *Xanthomonas campestris* pv. *arracaciae*)

Twenty four isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *arracaciae* were tested against each other for production and sensibility of bacteriocins. Only five isolates behaved as producers and two did work as indicators. This is the first report on bacteriocin production by the pathovar.

## LITERATURA CITADA

1. AGRIOS, G. N. *Plant Pathology*. San Diego, Academic Press, 1997. 635p
2. BAKER, K. F. & COOK, R. J. *Biological Control of Plant Pathogens*. San Francisco, W. H. Freeman, 1974. 433p
3. BROCK, T. D. *Biology of Microorganisms*. 4<sup>th</sup> ed. Englewood Cliffs, Prentice Hall, 1974. 852p.
4. CASSINI, S.T.A. *Atividade Bacteriocinogênica e Capacidade Competitiva entre Estirpes de Rhizobium phaseoli*. Piracicaba, USP, 1980. 112 p.(Tese de Mestrado).

5. CHEN, W.Y. Effects of avirulent bacteriocin-producing strains of *Pseudomonas solanacearum* on the control of bacterial wilt of tobacco. *Plant Pathology*, 33: 245 – 253. 1984.
6. FAHY, P. C. & PERSLEY, G. J. *Plant Bacterial Diseases - A Diagnostic Guide*. Sidney, Academic Press, 1983. 393p.
- 9 KLEMENT, Z.; RUDOLPH, K. & SANDS, D. C. *Methods in Phytobacteriology*. Budapest, Akadémiai Kiadó, 1990. 568p
10. LELLIOTT, R. A. & STEAD, D. E. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Plant Disease*. Oxford, Blakwell Scientific Publications, 1987. 216p.
11. MILLER, H. J. *Experiments in Molecular Genetics*. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory, 1972. 466p
12. REEVES, P. The bacteriocins. *Bacteriological Reviews*, 29: 24 - 45. 1965.
13. ROMEIRO, R. S. *Bactérias Fitopatogênicas*. Viçosa, Imprensa Universitária - UFV, 1995. 367p.
14. SCHAAD, N. W. (Ed). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 2<sup>nd</sup>. ed. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1988. 157p.
15. SCORTICHINI, M. *Malattie Batteriche delle Colture Agrarie*. Bologna, Edagricole, 1995. 436p
16. STANIER, R.Y.; INGRAHAM, J.L.; WHEELIS, M.L. & PAINTER, P.R. *The Microbial World*. 5<sup>th</sup> ed. New Jersey, Prentice Hall, 1986. 689p.
17. TUTTE, J. *Plant Pathological Methods*. Minneapolis, Burgess Pub. Company, 1969. 239 p.
18. VIDAVER, A. K. Bacteriocins: the lure and the reality. *Plant Disease*, 67: 471 - 475. 1983