CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Ralstonia* spp. ISOLADAS DE *Eucalyptus* sp. COM MURCHA BACTERIANA

Mônica Quitéria Rückl Preto (PIBIC/CNPq), Marcos Pileggi (Orientador), monicaruckl08@gmail.com: mpileggi@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética.

Microbiologia e Microbiologia Aplicada.

Palavras-Chave: *Controle biológico, Resistência bacteriana, Cultivo de eucalipto*.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar se somente o gênero *Ralstonia* pode causar a murcha bacteriana em cultura de *Eucalyptus* sp, visto que a bactéria causa a doença em culturas de solanáceas e arbóreas. Embora não tenham sido encontradas bactérias do gênero *Ralstonia*, foi identificada a presença de *Escherichia coli*, que pertence à mesma família de outras bactérias já relatadas como causadoras da doença. Portanto, estudos sobre diferentes agentes causadores, sintomas e mudanças no manejo da doença, deverão ser conduzidos.

Introdução

A doença da murcha bacteriana, causada por bactérias do gênero *Ralstonia*, provoca murchamento e amolecimento das folhas e descoloração vascular, contaminando principalmente através das raízes, mas também por feridas no caule (Qi *et al*., 2022). Apesar de as solanáceas serem as hospedeiras comuns, também pode afetar árvores como *Eucalyptus* sp (Morais *et al*., 2015). Com isso, procurou-se avaliar se o gênero *Ralstonia* era o único possível agente causal da doença da murcha bacteriana em cultura de *Eucalyptus* sp. de uma empresa de papel e celulose sediada no estado do Paraná.

Materiais e Métodos

Isolou-se microrganismos de fragmentos de *Eucalyptus* sp. que possuíam características da doença. Os fragmentos foram diluídos em NaCl 0,9%, homogeneizados, submetidos a isolamento bacteriano em meio rico (ágar BHI) e estocadas à -80°C. Os isolados foram inoculados em meios seletivos: MacConkey, EMB e SMSA-E, utilizados para identificar, respectivamente, bactérias gram-negativas, gram-negativas entéricas e do gênero *Ralstonia*. Uma amostra de *Ralstonia* (figura 1A) enviada pela empresa foi usada para comparação. Alguns isolados foram submetidos ao processo de PCR, seus produtos foram purificados, e estocados, para que futuramente, possam passar por identificação molecular.

Resultados e Discussão

Foram obtidos 73 isolados bacterianos, que foram testados em meios seletivos. Nenhum isolado de *Ralstonia* foi encontrado, mas 17 isolados foram identificados como *Escherichia coli* (figura 1B). Enterobactérias, como a *E. coli*, já foram relatadas como causadoras de doença (Yuan *et al.* 2023).

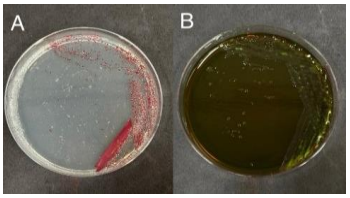


Figura 1. Em A: *Ralstonia* sp em SMSA-E. Em B: *E. coli* em EMB.

Conclusões

É provável que as bactérias do gênero *Ralstonia* não sejam as únicas causadoras da doença da murcha em *Eucalyptus* sp., sendo a *E. coli* uma possibilidade a ser estudada. Avaliações moleculares de sintomas e identificação dos agentes causadores em qPCR, deverão ser realizadas na continuação do projeto. Acredita-se que o aprofundamento em abordagens moleculares sobre esta doença poderá levar a mudanças em seu manejo, como na utilização de moléculas sinalizadoras de *quorum sensing* para regular genes de virulência.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela bolsa concedida, a empresa de celulose e papel, pelas amostras e apoio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa, ao meu orientador e o pessoal do laboratório de Microbiologia Ambiental, pelo apoio no decorrer do projeto.

MORAIS, T. P.; LOPES, C. A.; TEBALDI, N. D.; LUZ, J. M. Q. Occurrence and Diversity of *Ralstonia Solanacearum* Populations in Brazil. **Bioscience Jornal**, Uberlândia, v. 31, n. 6, p. 1722-1737, 2015.

QI, P.; HUANG, M.; HU, X.; ZHANG, Y.; WANG, Y.; LI, P.; CHEN, S.; ZHANG, D.; CAO, S.; ZHU, W.; XIE, J.; CHENG, J.; FU, Y.; JIANG, D.; YU, X.; LI, B. A Ralstonia solanacearum effector targets TGA transcription factors to subvert salicylic acid signaling**. The Plant Cell**, v. 34, e. 5, p. 1666–1683, 2022. DOI: https://doi.org/10.1093/plcell/koac015.

YUAN, T.; QAZI, I. H.; LI, J.; YANG, P.; YANG, H.; ZHANG, X.; LIU, W.; LIU, J. Analysis of changes in bacterial diversity in healthy and bacterial wilt mulberry samples using metagenomic sequencing and culture-dependent approaches. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fpls.2023.1206691.