

Patogenicidad bacteriana en maíz (*Zea mays*)

Patogenicidade bacteriana no milho (Zea mays)

Rocío Pérez-y-Terrón

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

rociperez33@hotmail.com

Julio César Carmona Díaz

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

julio.cesarcd@hotmail.com

Jorge Alejandro Cebada Ruíz

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

jcebadac@yahoo.com.mx

José Antonio Munive Hernández

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

munive68@yahoo.com.mx

Resumen

El maíz es un grano de consumo mundial para alimento tanto humano como animal. México se encuentra en el séptimo lugar de la producción, China y Estados Unidos son los principales consumidores. *Zea mays* pertenece a la familia de las gramíneas y tiene producción anual. La planta se puede ver afectada por plagas principalmente de diferentes especies de insectos. Puede también desarrollar enfermedad debida a hongos y virus, así como a bacterias patogénicas. Dentro de estas la causada por organismos del género *Pantoea*. *P. stewartii* se sabe que tiene genes como *cps* que codifican para la producción de exopolisacarido *sterwatan* controlada por un mecanismo de quórum sensing, y *hrp* para el sistema de secreción tipo III involucrados en la patogenicidad de la bacteria. En la descripción del genoma de *P. ananatis* se identifica posibles determinantes de patogenicidad como para el EPS *ananatan*; no contiene sistemas de secreción II y III pero si el IV, los cuales pueden estar relacionados con su patogenicidad. Hemos aislado *P. ananatis* de cultivos de maíz y amplificado secuencias para *cps* y *hrp*. Se ha probado la patogenicidad

en plántulas de maíz y frijol observándose las lesiones de mancha blanca, clorosis y zonas necróticas de las hojas.

Palabras clave: Zea mays, patogenicidad, Pantoea.

Resumo

O milho é o grão de consumo mundial, tanto para alimentação humana e animal. México está em sétimo lugar da produção, a China e os Estados Unidos são os principais consumidores. Zea mays pertence à família das gramíneas e tem uma produção anual. A planta pode ser afectada por pragas principalmente diferentes espécies de insectos. Pode também desenvolver-se devido a fungos e vírus da doença, bem como as bactérias patogénicas. Dentro aquelas causadas por organismos do género Pantoea. *P. stewartii* é conhecido por ter como genes cps que codificam para a produção de exopolissacarídeo sterwatan controlada por um mecanismo de sensor de quorum, e a HRP para a secreção de tipo III sistema envolvido na patogenicidade das bactérias. Na descrição do genoma de *P. ananatis* possíveis determinantes de patogenicidade para identificar o ananatan EPS; não contém os sistemas de secreção de II e III mas se IV, que podem ser relacionadas com a sua patogenicidade. Nós isolamos *P. ananatis* de cps milho e sequências amplificadas e HRP. Patogenicidade foi testado em milho e mudas de feijão observadas as lesões de mancha branca, clorose e áreas de necrose das folhas.

Palavras-chave: Zea mays, patogenicidade, Pantoea.

Fecha recepción: Julio 2011

Fecha aceptación: Noviembre 2011

Introdução

O milho é um cultivo muito remota, sugerindo que data de cerca de 7000 anos, embora a sua, a origem não é clara. As descobertas mais antigas desta planta foram encontrados nas montanhas do México, portanto, referem-se a esta região como ponto de irradiação. Este cereal foi um dos principais produtos de gerações de subsistência indígena. Hoje o seu cultivo é generalizada em todos os outros países, especialmente na Europa e os EUA, onde

ela ocupa uma posição estratégica (Cooperativa Colonias Unidas. Agropec. Inc. LTDA. Itapúa, de 2005, Salvador, 1997).

Entre os produtos que podem ser obtidos a partir do milho são os seguintes:

Proteínas e fibras para preparar refeições equilibradas.

Açúcares, tais como dextrose para lanches, produtos de padaria, bebidas, soros, lisina, ácido cítrico e antibióticos; Xarope de milho: como adoçante para a produção de refrigerantes, sucos, geléias, doces, sobremesas, vinhos e adoçantes de baixas calorias; e Glucose: para a fabricação de doces, doces e goma.

Etanol: álcool industrial, bebidas alcoólicas e de combustível.

Óleos comestíveis: agregado familiar e comida para bebê.

Amido: para fazer pão, mingau, comida para bebê, cerveja, papelão ondulado e papel.

Coloring: processos para a produção de refrigerantes, cerveja, bebidas alcoólicas, carnes e padaria.

Maltodextrinas: leite, salsicha, chocolate em pó, alimentos em pó.

Sorbitol: para pastas dentífricas e produtos de confeitaria (SE, 2012).

Num contexto geral, sabe-se que as bactérias associadas com as plantas podem actuar como benéfico ou prejudicial. Todos os vegetais são ou microbiota superfície (epífitas) ou dentro (endófitos). Alguns são residentes e outros transientes. As bactérias estão entre os microrganismos colonizam plantas sucessivamente, como essas grandes populações adultas de bactérias tornam-se visíveis como agregados em biofilmes como ligar os vasos de plantas. Dependendo do tipo de populações bacterianas de aproximadamente 10^6 CFU / ml (unidades formadoras de colónia / mililitro) ou mais são necessárias para as bactérias para funcionar como quer como agentes de controlo biológico, efeitos benéficos ou como agentes patogénicos que provocam doenças infecciosas (Vidaver et al., 2004).

Características gerais

A planta de milho (*Zea mays*) pertence à família das gramíneas, ela é robusta e fácil de rolamento desenvolvimento da produção anual. O caule é ereto simples, de alta duração, (chegando até 4m de altura) e sem ramificações. Pelo olhar que lembra um caniço, ele apresenta entrenudos e osso esponjoso. O milho é inflorescência monóica, com separado masculina e inflorescências femininas dentro da mesma planta. O macho tem uma inflorescência panícula (chamado quebra-mar ou pluma) de amarelecimento que tem uma grande quantidade de pólen na ordem dos 20 a 25 milhões de grãos. Em cada pouco panícula flor compor três estames são apresentados. As folhas são longas, grande, muito forte e afiada, lanceoladas, substituição, paralelinervas extremidades, abraçando o tronco e mostram a presença de vilosidades no feixe. As raízes são fasciculadas e às vezes se projetam nós ao nível do solo nessas raízes secundárias ou acidentais (Cooperativa Colonias Unidas. Agropec. Inc. LTDA, 2006).

O milho é utilizado em ambos os produtos alimentares humanos e animais pode ser obtida a partir de muitas variedades botânicas diferente cultivadas (OIEDRUS, 2007); Entre os mais importantes são os seguintes:

- a) *Zea mays* L. var. *indentata* (Sturtev.) LH Bailey: variedade botânica é a mais cultivada no mundo; É comumente conhecido como milho dentado (milho dentado).
- b) *Zea mays* L. var. *indurata* (. Sturtev) LH Bailey: o milho pertencente à variedade botânico, são comumente conhecido pelo nome de milho Crystal (milho duro). Seus grãos são tesão e duro, vítreo e ligeiramente arredondada ou afiada. A cor dos grãos é tipicamente de laranja.
- c) *Zea mays* L. var. *saccharata* (. Sturtev) LH Bailey: o milho pertencente à variedade botânico, são comumente conhecidos como o milho doce (o milho doce).

Sementes de milho está contido dentro de uma fruta chamada caryopsis; a camada externa que envolve este corresponde à estrutura do pericarpo da fruta é posicionado sobre o revestimento de semente. Este último é composto por internamente o endosperma e o

embrião, que por sua vez consiste na coleorriza a radícula, plumule ou folhas embrionárias, escutelo e coleótilos ou cotilédones (OIEDRUS, 2007).

A composição média de uma cariósida milho pertencentes à espécie *Zea mays* L. var. *indentata* (. Sturtev) LH Bailey, é de 65 a 70% de amido, 1 a 2% de açúcar, 10 a 11% de proteína; por 4 a 5% da fibra e metade (2 a 2,5%) e fibra de 1 a 2% de cinzas. O percentual de umidade relativa situa-se entre 12 e 13% (OIEDRUS, 2007; FAO, 2007).

A produção de milho

O nível de produção de milho depende da área sob a colheita, e produz ele. O Departamento de Agricultura (USDA) estima que a produção de milho 2012/13 mundo será 839.68 milhões de toneladas e 40,7 milhões inferior ao colhido durante os anos de 2011 e 2012 (Agropanorama, 2013 toneladas ; FAO, 2007; SE 2012).

Os principais países produtores de milho por ano são:

Estados Unidos, com 272,4 milhões de toneladas

A China produziu 200,00 milhões de toneladas

Brasil 70,0 milhões de toneladas

União Europeia (27 Estados) 54,64 milhões de toneladas

Argentina 28,0 milhões de toneladas

Ucrânia 21.0 milhões de toneladas

México 20,7 milhões de toneladas

(Agropanorama, 2013).

Estados Unidos é o maior consumidor de milho 261.67 milhões de toneladas, representando 33,9% do consumo mundial, a China em segundo lugar com 19,29%, a União Europeia em terceiro, com 8,22% e no México é o quarto com 4,14% (SIAP, 2012).

O mercado interno para o milho é composto por diversas variedades entre as quais o milho branco e amarelo, mas existem outros como variedades de milho e pozole cor, com os dois primeiros são variedades ocupando um papel importante na produção e comercialização. (SE, 2012).

Produção no México para o período de 2012/2013 é principalmente de grãos de milho 17,635,417.30 de toneladas, com um rendimento de 7,28 toneladas / ha; seguido por 9,605,147.84 toneladas de milho forrageiro com um rendimento de 30,86 toneladas / ha; seguido de grãos e de sementes de milho para pipoca com uma produção de 24,721.94 e 472.60 respectivamente Toneladas (SIAP, 2013).

México é um país historicamente deficiente na produção-consumo de milho porque a produção interna não é suficiente para suprir a demanda necessária. O mercado de importação, recolha e comercialização está concentrada em poucas empresas que armazenam e distribuem, não permitindo a entrada de novos concorrentes (SE, 2012).

Patologias causados no milho

Milho, como muitas outras culturas são susceptíveis a várias doenças que afectam o desenvolvimento da planta e seus frutos. As doenças são favorecidos pelas condições ambientais, tipo de solo, a susceptibilidade do material, e quando eles são doenças provocadas por agentes virais, condições que favorecem a migração, sobrevivência e o desenvolvimento de vectores (masculino e Sarria, 2007 é afectada).

As principais doenças do milho são geralmente causadas por fungos e vírus, causando grandes perdas econômicas, menos doença causada por bactérias que causam dano relativamente menor e custos econômicos são apresentados. A maioria das plantas, cultivadas e silvestres têm imunidade inata ou resistência a diversos patógenos. No entanto, muitas plantas podem abrigar patógenos sem desenvolver sintomas (assintomática) (Vidaver et al, 2004; Infoagro, 2013).

Existem diferentes patologias em milho, alguns são devidos à presença e à criação de pestes tais como insectos, eles elaterideo que ocorre em solos arenosos ricos em matéria orgânica. Esses vermes são besouros do gênero *Conoderus* e *melanotus*, causando deterioração grave

no chão e até mesmo a morte. Os vermes cinzentos são larvas de mariposas da classe *Agrotis* gênero. *Agrotis ipsilon* espécie provoca danos ao pescoço da planta de produzi-los feridos graves (INFOAGRO, 2013).

Como *Rhopalosiphum padi* afídeos alimentam-se da seiva causando uma diminuição do rendimento final. Enquanto pulgão milho verde é *Rhopalosiphum maidis* transmissor do vírus para extrair a seiva das plantas atacando principalmente o milho doce, a última espécie também causa danos graves devido ao rápido crescimento do milho. O *nubilalis* Europeia *Ostrinia* broca do milho, a broca do caule e desenvolve 2-3 gerações atingindo o seu pleno desenvolvimento larval atingindo 2 cm de comprimento. As larvas começam alimentando-se de folhas de milho e, eventualmente introduzida no tronco. Apenas eles estão quebrando os caules e espigas que foram danificadas também (Infoagro, 2013).

Brocas do milho são duas pragas causadas por *Sesamia nonagrioides*, um lepidóptero cuja lagarta da broca do milho caules causando danos extensos. As medidas lagarta cerca de 4 cm, hiberna dentro cornstalks onde formam pupas. Borboletas aparecem na primavera depositando seus ovos nas bainhas foliares; *Nubilalis Pyrausta*, medindo este *Lepidoptera* cerca de 2 cm de comprimento, que o dano ocorre pela ingestão de folhas e espigas de milho cavar. Postura de ovos ocorre em diferentes partes da planta (Infoagro, 2013).

Alguns exemplos de doença bacteriana grave causada por *Pseudomonas* nós *alboprecipitans*, ela se manifesta como manchas nas folhas brancas com avermelhado causando podridão do colo. *H. turcicum* afecta as folhas inferiores do milho. As manchas são grandes de 3 a 15 cm, e a lâmina está se transformando de verde ao marrom. Seus ataques são mais intensas a temperaturas de 18 a 25C. Folhas caem se o ataque é muito acentuada. O *Antracosis* é devido à presença de *Colletotrichum graminocolum*. Lesões estão causando manchas marrom-avermelhada e estão localizados nas folhas, limbo produtos rugas e destruição da folha (Infoagro, 2013; Masculino e Sarria, 2007).

Bacteriana subsp *avenae* praga *Acidovorax. avenae*, faz com listras ou pontos, folha longa e estreita com bordas marrons, as folhas são cortadas e isso pode ser facilmente associado com maior podridões do colmo. *Andropogonis Burkholderia* produz listras longas, paralelas de verde azeitona para amarelo danos e umidade (encharcado), as folhas

superiores pode ser quase branco. Wilting do Norte folha de milho *Setosphaeria turcica* produziu resultados semelhantes aos formulários de eixo longo pontos cinza-verde; mas folha murcha produzido por *Cochiobolus heterostrophus*, e à mancha de milho produzido por *C. carbonum* causar laranja distinta para manchas marrons. (Stack et ai, 2002).

SBSP michiganensis *Clavibacter. nebrakensis* causa sintomas semelhantes à doença de Stewart, com lesões paralelas às nervuras das folhas de intenso olhar molhado preto verde. Na infecção de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, pequenas manchas aparecem nas pontas das folhas mais baixas do que mais tarde se transforma verde ao marrom avermelhado. Em lesões avançadas de halo amarelado é observado em torno deles. Translucens *Xhantomonas* é transmitida sementes de testes bacterianos e baía ataques *Rathayibacter tritici* com pico de podridão (CIMMYT, 2013).

Pantoea stewartii causa a doença de Stewart relatou em 1897 em Nova York no milho doce. Atualmente ele não aparecer de forma significativa na Europa Central e do Sul, onde o milho se originou América. *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* também pode ser transmitida de terra, esterco ou talos de milho durante o inverno frio. O principal agente responsável pela dispersão nos EUA é o besouro *Chaetocnema pulicaria*, mas também pode ocorrer em outros vectores, tais como *Diabrotica undecempunctata howardii* (adultos e larvas) *Chaetocnema denticulata*, as larvas de *Delia platura*, *Agriotes mancus*, *Phyllophaga* sp . e as larvas de *Diabrotica longicornis*. Quando os migra besouro, podem ser trazidos de distâncias consideráveis por correntes de ar e transmitir a bactéria (OEPP / EPPO, 2006).

O principal hospedeiro é o milho doce (*Zea mays* var. *Saccharata*) os mais suscetíveis, mas os dentes (*Z. mays* var. *Indentata*), que geralmente é mais difícil, farinha e milho para pipoca cultivares (*Z. mays* var . *everta*), sorgo e milheto (Margaret et al, 2004). *P. stewartii* foi inoculado artificialmente *lachrymajobi* Coix, *Zea perennis* *Setariapumila* e causando danos na planta (OEPP / EPPO, 2006, Stack et ai., 2002, Merighi M., 2003).

A bactéria também ataca outras gramíneas forrageiras cultivadas na América do Norte como *dactiloydes Tripsicum* e teosinto (*Zea mexicana*). As exceções notáveis foram relatados surtos esporádicos relatados milho doce na Itália, Áustria e México (Toluca Valley, Oaxaca, Tabasco, Tlaxcala e Veracruz). Nestes países, não se sabe como a doença

se espalha através de um foco inicial eo subsequente estabelecimento, mas em países onde se presente, pode mostrar a capacidade potencial para acomodar combinações *P. stewartii* vetor ou a presença de acolhimento lateral (Stack et al, 2002).

Os sintomas da folha listrado pode ser confundida com deficiências nutricionais ou seca. A presença de *Pantoea ananatis* como causando branco local, clorose e necrose com perda de colheitas (Pérez-e-Lump et al, 2009) também são relatados.

Patogenicidade

Dois grupos de genes que desempenham um papel na patogenicidade e virulência da bactéria infectante milho. Neste capítulo é feita referência ao gênero *Pantoea*. Uma é o de cps que compreende 12 genes e é necessário para a produção de exopolissacarídeo (EPS) "sterwatan", o outro é o grupo HRP, que codifica um sistema de secreção de tipo III, necessária para a patogenicidade geral e produção de lesões foliares (Cha et al, 1998).

O cluster cps, especificamente na região de cpsD e CPSE codifica proteínas responsáveis pela síntese e secreção de montagem de unidades de repetição e a sua polimerização dentro de uma macromolécula exopolissacarídeo (EPS) conhecido como sterwatan. Esta EPS bloqueia o livre fluxo de água, levando a murchar condição. Foi proposto que o EPS pode trabalhar para prolongar os sintomas WTS (água de maceração de sintomas) e promover o crescimento bacteriano a reter a água e os nutrientes nos espaços intercelulares (Coplin et al, 1992).

O sterwatan é uma unidade de aproximadamente 45 MDa, repetido sete monossacáridos contendo glucose, galactose e ácido glucurónico em 4: 2: 1 proporciona uma barreira protectora contra os factores de defesa da planta hospedeira e contribui parcialmente, indução de início dos sintomas da doença (Coplin et al, 1992; Labate et al, 2007; Merigui et al, 2006).

Produção de EPS é controlada por um mecanismo de sensor de quorum e é regulado pela proteína produzida por *SSF* *SSF*, que é sinal de sintase homoserina lactona (HSL) e *EsaR* produzido por *esaR*, que é o regulador de transcrição que regula o locus cps (Coplin et al, 1992; Wang e Leadbetter, 2005; Gonzalez e Keshavan de 2006, Minogue et al, 2005).

Se a sequência de SSF é mutado, a produção de 3-oxohexanoíl-HSL e algum outro detectável acil-HSL é bloqueada; esta deficiência suprime a produção de EPS e elimina a capacidade de *P. stewartii* produzir doença de Stewart na planta hospedeira. Enquanto isso, quando uma mutação no *esaR* produz níveis elevados de EPS, independentemente da densidade celular e mesmo na ausência de sinal de HSL é dada. *EsaR* EPS suprime a síntese a baixa densidade celular (von Bodman e Farrand, 1995; von Bodman et al, 1998).

Para interromper o gene reprimido requer quantidades micromolares de constitutivamente produzindo EPS HSL, mas as estirpes são menos virulentos do que o tipo selvagem. Sugere-se que o mecanismo de sensor de quorum podem tomar EPS expressão durante as fases iniciais da infecção, fazendo com que este não interfira com outros mecanismos de patogênese (von Bodman et al, 1998, Minogue et al, 2005).

O EPS é necessário para a formação de biofilme e circulação sistêmica rápida na planta estirpes deficientes EPS crescem e se espalham de forma mais lenta nos tecidos vasculares do hospedeiro, são menos como as estirpes do tipo de colonizar as plantas e sistemicamente eles são incapazes de causar plantas murcham infectados (Merighi M., 2003).

A síntese da cápsula é constitutiva mas a produção adicional de lodo é induzida pela disponibilidade de açúcares livres no meio de crescimento. Para resumir tudo isso está envolvido em virulência, EPS, possivelmente, atinge um mecanismo para proteger fitoaglutininas nos dutos e colonização do inseto vetor. A maioria destes genes que ocorrem são conservados em *E. amilovora* e *E. coli* baseado em testes de homologia de sequência e de complementação interespecies, excepto para alguns genes de glicosiltransferase que podem ser considerados diferentes na estrutura dos dois polissacáridos (Merighi M, 2003).

Os genes clonados a partir de *E. amilovora* suplementado maioria cps *P. stewartii* mutantes para produção de lodo e virulência em sementes de milho, mas o arranjo dos genes dos dois grupos mostrou ligeiramente diferente (Merighi M. 2003, Sharples et ai, 1990).

Os genes *hrp* são dispensáveis para o desenvolvimento em meio mínimo, mas essencial para a patogenicidade em hospedeiros suscetíveis e de causar reação de hipersensibilidade (HR) em hospedeiros inconsistentes e não-acolhimento. O HR é, uma fábrica de defesa localizada rápida envolvendo morte celular programada, a produção de oxigênio activo e

formação de compostos fenólicos e antimicrobiana em torno do local da infecção. Durante a infecção natural, a reacção normalmente não é visível, porque eles são algumas células hospedeiras bacterianas e envolvidas, mas sob condições experimentais com inoculo alta (> 10⁷ / ml), um colapso celular massiva e uma necrose confluyente que é visto com a causa nua view. Esta reacção tem o efeito líquido de restringir o crescimento do patógeno e o progresso subsequente da doença (Merighi H, 2003; Merighi et ai, 2001).

As proteínas HRP / HRC secretados pelas TTS (tipo de sistema de secreção III) sistemas, foram nomeados Lúpulo (por proteína externa HRP), paralelamente à designação de proteínas externas Yops Yersinia. Pelo menos quatro classes de Hops viajar secreção do aparelho: Harpins, pilinas proteínas translocador HRP e proteínas efetoras. Os três primeiros são coletivamente definidas como proteínas auxiliares provadas para seu papel alegado ou auxiliar em translocação / secreção de outros substratos de sistemas TTS (Frederick et al, 2001).

As proteínas hidrófilas harpins são ricas em glicina e cisteína livre estável de calor, são capazes de induzir uma HR quando infiltrada em concentração elevada estão dentro do apoplasto. Eles viajam através do dispositivo TTS mas são libertados dentro apoplásticos espaços em vez de ser injectada para dentro das células hospedeiras. Os harpins foram descritos em *E. amylovora* (Ea harpina ou hrpN e HrpW) erwinias outro, em todos patovares *P. syringae* e *R. solanacearum* estudadas, mas não há semelhança de sequências entre as proteínas hrpN, HrpW , hrpZ e PopA1 (Frederick et ai, 2001; Merighi et ai, 2006).

Cada bactérias fitopatogénicos responder de forma algo diferente para as condições externas e de desenvolvimento, e os sinais necessários para induzir a expressão de genes hrp em *P. stewartii*, *Pseudomonas syringae* e *Erwinia amylovora* (Merighi et ai, 2001). HRPS regulação é levada a cabo por ambos os reguladores específicos e globais, os quais podem ser "afinados" de acordo com as condições de cada ameia em que o agente patogénico é encontrado (Merighi et al, 2001).

Pantoea ananatis sobre as espécies foi relatada na sequência do genoma da estirpe patogénica de eucalipto LMG20103. O genoma é constituído por um único cromossoma com um tamanho de 4,69 milhões de nucleótidos e de teor de G + C de 53,69% e um total

de 4,27 genes que codificam para proteínas. Ele revelou a presença de 433 genes que codificam proteínas que demonstraram experimentalmente para desempenhar um papel na doença (Maayer et al, 2010).

A falta de sistemas de secreção tipos II e III também relatados, que desempenham um papel importante em bactérias patogênicas doenças animais e plantas; mas três cópias do sistema de secreção do tipo IV, recentemente descrito como fator de patogenicidade e onde a secreção de proteínas efetoras secretadas putativo através destes sistemas, é adquirido através de transferência horizontal. Foram identificados alguns possíveis determinantes de patogenicidade como demonstrar exopolysaccharide ananatan que desempenha um papel na doença de cebola e abacaxi (Maayer et al, 2010). A sequência do *P. ananatis* PA13 tensão compreende pseudogenes 4,87 Mb é de 55 7 83 operons rRNA e tRNAs e 281,754 pb de plasmídeo (Choi et al, 2012).

Nós relatado anteriormente pela identificação 16S rDNA de *P. ananatis* isolado plantas de milho com danos severos (Pérez-e-Lump et al, 2009). As amostras foram obtidas a partir de folhas, caule e solo ligado às raízes de plantas de milho dos estados de Puebla, Tlaxcala e Veracruz, no México, identificando 32 cepas.

Além disso, utilizou-se iniciadores oligonucleotídicos CPSL1 / CPSR2c descrito por Coplin et al em 2002 para 50% amplificar estirpes identificadas por PCR do fragmento de 1100 pb descrito. Estes oligonucleótidos são dirigidos a genes cps conjunto, especificamente na região de cpsD e CPSE codificação para a síntese de proteínas responsáveis para a montagem e a secreção de unidades de repetição e a sua polimerização dentro de uma macromolécula exopolissacarídeo (EPS) conhecidos como sterwatan.

Testes de identificação e de patogenicidade

O uso de HRP1d / HRP3c concebidos para amplificar um fragmento de 900 pb do gene HRPS oligonucleótidos quadro de leitura aberta, que relataram 37,5% das estirpes com o fragmento, e alguns dos quais também foram amplificadas com oligonucleótidos cps. O gene HRPS, usando a primeira hrp1d e hrp2c, são internos ao quadro de leitura aberta para a leitura HRPS. O produto de amplificação assim obtido foi de 900 pb, que codifica um potenciador da transcrição NtrC semelhante à que é requerida para a expressão de genes hrp

de secreção (resposta de hipersensibilidade e patogenicidade) e as efectoras (WTS Coplin et al, 2002). As estirpes que apresentaram o fragmento amplificado (55,5%) foram positivas em resposta de hipersensibilidade rapé.

O uso de ES1G1 / ES1G2c e ES1G2c / ES16 oligonucleótidos amplificados por PCR, fragmentos de 920 e 290 pb, respectivamente, em todas as estirpes de *P. stewartii* (Coplin et al, 2002). Também é mostrado em nossos testes (16,6%), que ambas as ampliações, mas (62,5%) mostram apenas o fragmento de amplificação de 920 pb, isso seria incompatível com o relatório que as regiões cromossômicas que codificam ITS rRNA variar espécies consideravelmente relacionados (Coplin et al, 2002). No entanto, eles também relatam que *P. ananatis* também amplifica o fragmento de 290 pb e outras bandas não específicas para os dois conjuntos de oligonucleotídeos.

Ao realizar a inoculação de plântulas de milho 17 dias de crescimento, para determinar as estirpes de patogenicidade identificados como *Pantoea* usado. Todas estas linhagens foram capazes de causar uma visíveis mudas quando inoculados com uma dose de 1×10^6 CFU no desenvolvimento de plantas de milho danos. Foi reduzido drasticamente o tamanho da raiz principal e o tamanho e número de raízes secundárias, mostrando a falta dela, em algumas plantas. As hastes também foram reduzidos em tamanho e deixa também algumas plantas que não tinham ambos. Observou-se que outras plantas de deterioração também mostraram um aumento da turbidez no meio de cultura, sugerindo um aumento da população bacteriana.

Ao realizar esses ensaios com cinco dos nossos cepas identificadas como *P. ananatis* em *Phaseolus vulgaris* mudas de feijão (réplicas de 5) obteve-se semelhantes aos apresentados no milho, onde as cepas causado dano total de mudas resultados.

Conclusões

Pesquisa *Pantoea* espécies de solo, talos e folhas de culturas de milho com deficiência visual nos estados de Puebla, Tlaxcala e Veracruz, no México nos permitiu detectar a presença de *Pantoea ananatis*.

As mudas de milho teste de patogenicidade apresentaram graves prejuízos para cepas isoladas de três lotes diferentes.

foi determinada e identificada uma sequência parcial putativo para o locus de *P. ananatis* cpsD.

HRPS para genes amplificados.

Este trabalho foi financiado em parte com fundos fornecidos por Promep.

Bibliografía

- Cha, Ch., Gao, P., Chen, Y., Shaw, P.D. & Farrand, S. K. (1998). Production of acil-homoserine lactone quorum sensing signails by gram-negative plant-associated bacteria. *MPMI*. 11(11), 119-1129.
- Coplin, D.L., Majerzack, D.R., Zhang, Y. X., Kim, W.S., Jock, S., & Geider, K. (2002). Identification of *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*. *Plant Disease* 86(3), 304 – 311.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2007). Perfiles de países de la FAO. [Documento en PDF]. Recuperado de <http://www.fao.org/countryprofiles/index/en/?lang=es>
- González J.E. & Keshavan N.D. (2006). Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiology and Molecular Biology*. 70(4), 859-875.
- Salvador R.J. (1997). Maize. The encyclopedia of México: History, Culture and Society.
- Secretaría de Economía (2012). Dirección general de industrias básicas maíz-tortilla: Situación actual y factores de competencia local Análisis de la Cadena de valor Secretaría de economía. [Documento en PDF]. Recuperado de http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/20120411_analisis_cadena_valor_maiz-tortilla.pdf

Sharples, G. J., & Lloyd, R. G. (1990). A novel repeat DNA sequence located in the intergenic regions of bacterial chromosomes. *Nucleic Acids Research*, 18, 6503-6508.

Varón de Agudelo, F. & Sarra V. A. (2007). Enfermedades del maíz y su manejo. Colombia: Produmedios.

Von Bodman, S. & Farrand S. K. (1995). Capsular polysaccharide biosynthesis and pathogenicity in *Erwinia stewartii* require induction by an N-Acylhomoserine lactone autoinducer. *Journal of Bacteriology*. 177, 500-5008.