

²¹ **Detecção de *Pseudomonas* spp. em gemas de pereiras europeias**

Cátia Cristina Rommel; Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza; Valmir Duarte; João Bernardi

A morte de flores de pereiras europeias (*Pyrus communis* L.) vem ocorrendo em pomares comerciais de Vacaria, RS. Em outros países, a doença está associada à *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) e possui uma estreita relação com o abortamento de gemas florais. Considerando-se que a morte de flores depende da presença de inóculo nas gemas e que o monitoramento do patógeno é uma ferramenta essencial no manejo de doenças de plantas, objetivou-se, com esse

trabalho, a padronização de um método rápido para detecção molecular de *Pseudomonas* spp. em gemas de pereiras européias. Cinco gemas foram maceradas dentro de microtubos contendo suspensão bacteriana (10^8 ufc/mL) de dois isolados obtidos em pomares de Vacaria (Pack 9 e Pack 10) e uma estirpe padrão (*Pss*). Os macerados foram submetidos a seis protocolos distintos de extração de DNA: (1) fervura a 96°C por 10 min; (2) lise alcalina (De Boer & Ward, 1995); (3) FTA Plant Card Whatman® (FTA); (4) FTA com pré-lavagem em etanol 70%; (5) FTA com pré-lavagem em etanol 70% e adição de 2% de Polivinilpirrolidona (PVP); (6) Lise de Edwards, FTA com pré-lavagem em etanol 70% e adição de 2% de PVP. O DNA extraído sob os diferentes protocolos foi quantificado e submetido à PCR com oligonucleotídeos específicos ao gênero *Pseudomonas*. Repetiram-se todas as reações acrescentando-se 2% de PVP. DNA puro de *Pss* constituiu o controle positivo. Os produtos das amplificações foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose e coloridos com brometo de etídio. A detecção de *Pseudomonas* spp. em gemas foi possível apenas com a combinação de adição de 2% de PVP na reação e extração de DNA através dos protocolos 5 e 6. Entretanto, o uso da lise de Edwards (protocolo 6) resultou em menor especificidade. A não detecção pelos outros métodos provavelmente se deve à alta concentração de fenóis oriundos da lignina presente nas gemas, que inibem a reação de polimerização do DNA. O PVP tem capacidade de ligação com fenóis, permitindo a amplificação. Todas as estirpes testadas foram detectadas.