

Diversidade genética e desenvolvimento de *primers* específicos para detecção de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

Queiroz-Ferreira, M.S¹, Carvajal-Jaimes, J. P¹, Alves, A.R¹, Quezado-Duval, A.M², Rossato, M.¹

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília (UnB), Brasília–DF, Brasil.

²Centro Nacional de Pesquisa em Hortaliças (CNPq), Embrapa Hortaliças (Hortaliças), Brasília–DF, Brasil.

*marcsqferreira@gmail.com

Resumo

O gênero *Pseudomonas* compreende diversas espécies bacterianas com ampla distribuição ambiental, muitas das quais estão associadas a doenças de importância econômica em culturas agrícolas. No tomateiro (*Solanum lycopersicum*), doenças de espécies de *Pseudomonas* como agentes causais, como a pinta bacteriana causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, e a necrose da medula, associada com várias espécies, *P. corrugata*, *P. mediterranea*, *P. viridiflava*, *P. cichorii* e *P. marginalis*, todas com relatos no Brasil. Além do tomateiro, elas afetam outras culturas de importância econômica, são passíveis de transmissão via sementes infectadas e têm sido responsáveis por perdas de produtividade. A identificação precisa dessas espécies, no entanto, ainda apresenta desafios, dada a sua diversidade genética e similaridade fenotípica. Diante disso, esta pesquisa tem como objetivo caracterizar isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* em tomateiro através de reações de PCR com *primers* específicos e desenvolvendo uma ferramenta molecular precisa para seu diagnóstico. Foram utilizados isolados da coleção de trabalho da Embrapa Hortaliças, obtidos de plantas sintomáticas provenientes de diferentes estados brasileiros. Foram utilizados 187 genomas completos de diversas espécies de *Pseudomonas* fitopatogênicas e *Pseudomonas* de vida livre no solo, retirados do banco de dados *GenBank*, e para a espécie alvo *P. syringae* pv. *tomato* foram utilizados 10 genomas completos para a seleção e identificação de regiões exclusivas através do programa RUCS (*rapid identification of PCR primers for unique core sequences*) com o intuito de desenhar *primers* específicos para a criação de uma capaz de identificar o patógeno. Esses novos *primers* específicos foram desenvolvidos através da plataforma *GeneiousPrime* e *PrimalScheme* e testados. A validação dos *primers* desenhados usou como controle positivo o DNA extraído do isolado IBSBF 432, conhecidamente da patovar *tomato* de *P. syringae*, juntamente com isolados representativos das demais espécies/patovares que afetam o tomateiro. Após a

confirmação da especificidade dos *primers*, 121 isolados da coleção foram utilizados para verificar a presença do patógeno, onde 42 amostras foram positivas para *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. O par de *primers* confirmado como específico é mais uma opção para um método de diagnóstico rápido, confiável e aplicável a diferentes contextos agrícolas. Contribuindo de forma significativa para o entendimento da presente população da espécie de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* associada ao tomateiro no Brasil e para o aprimoramento das estratégias de detecção e manejo dessas doenças bacterianas, promovendo maior eficiência no controle fitossanitário e produção agrícola.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*, diagnóstico molecular, PCR.

BALTRUS, David A.; MCCANN, Honour C.; GUTTMAN, David S. Evolution, genomics and epidemiology of *Pseudomonas syringae*: challenges in bacterial molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, v. 18, p. 152-168, 2017.

BERGE, O. et al. A user's guide to a data base of the diversity of *Pseudomonas syringae* and its application to classifying strains in this phylogenetic complex. *PLoS One*, v. 3, n. 9, 2014.

ORFEI, B. et al. Race-specific genotypes of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* are defined by the presence of mobile DNA elements within the genome. *Frontiers in plant science*, v. 14, 1197706, 2023.

THOMSEN, M. C. F. et al. RUCS: rapid identification of PCR primers for unique core sequences. *Bioinformatics*, v. 33, n. 24, p. 3917-3921, 2017.