

PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE *XYLELLA FASTIDIOSA* CAUSADORA DA ESCALDADURA DAS FOLHAS DE AMEIXEIRA

Autores: Luana Boeira¹, Carine Pedrotti¹, Gabriela Vignatti¹, Wilson Sampaio de Azevedo Filho, Raquel Cristina Balestrin.

Instituição: ¹Universidade de Caxias do Sul – Centro de Ciências Exatas da Natureza e Tecnologia - Laboratório de Genética Molecular, Bento Gonçalves - RS/Brasil 95700-000. Tel.: 54 3449-5200. Email: lboeira2@ucs.br; rcbalest@ucs.br; wsafilho@ucs.br

Resumo:

A cultura da ameixeira no Rio Grande do Sul está sofrendo graves perdas devido a problemas causados pela bactéria *Xylella fastidiosa*, causadora da doença chamada Escaldadura das Folhas da Ameixeira (EFA). A doença se caracteriza por necrose de folhas e secamento de ramos colonizados pela bactéria, com declínio no vigor e na produção, culminando com a morte da planta. No entanto, os sintomas típicos da EFA só tornam-se perceptíveis após vários meses de incubação da bactéria. Assim, técnicas moleculares são imprescindíveis para a detecção da *X. fastidiosa*. O trabalho tem como objetivo padronizar o protocolo para a extração de DNA de *X. fastidiosa* em ameixeira. As coletas do material botânico (*Prunus salicina* Lindl.) para o estudo foram realizadas no período de março a maio de 2015, em sete pomares da Serra Gaúcha. Em 2014, foi utilizado para as extrações de DNA o Protocolo 1, baseado em Pinto e Leite (1999) sendo o DNA extraído submetido à PCR, utilizando-se os primers HL5 e HL6 (Francis et al., 2006) e os primers RST31 e RST33 (Minsavage et al., 1994). Contudo, este protocolo de extração não demonstrou um rendimento eficiente nas extrações, possivelmente devido a algum agente interferente na reação de PCR. Dessa forma, a partir de novas coletas realizadas no ano de 2015, busca-se a padronização da extração de DNA através do uso do Protocolo 2, baseado em Murray e Thompson (1980). Após extração, o DNA é submetido à PCR, com os primers descritos anteriormente. A amplificação do DNA é realizada em termociclador Amplitherm Termal Cyclers Mod Tx25. Em seguida, as amostras são submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TBE, corados com GelRED TM. Os fragmentos são visualizados sob luz UV e registrados por fotodocumentador L-PIX EX. Os trabalhos estão em andamento para permitir uma técnica de detecção padronizada e segura do fitopatógeno causador da EFA, o que proporcionará um rendimento eficiente nas extrações e êxito nas reações de PCR.

Palavras-chave: *Xylella fastidiosa*; padronização; extração de DNA; ameixeira.

Agência de fomento: UCS.