



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

PESQUISA E CARACTERIZAÇÃO DE ISOLAMENTOS
***DE Pseudomonas syringae* EM CEREJEIRA**

Engenharia das Ciências Agrárias - Ramo Agrícola
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

João Pedro Lopes Alves

—◆—
CASTELO BRANCO

2001

Índice

1. Introdução.....	1
2. Cancro Bacteriano.....	2
2.1. O agente patogénico.....	2
2.2. Sintomas.....	3
2.3. Epidemiologia e ciclo de vida.....	8
2.4. Meios de luta.....	11
3. Material e Métodos.....	14
3.1. Selecção e recolha de amostras.....	14
3.2. Isolamento e manutenção das culturas bacterianas.....	14
3.3. Origem, material e data da colecção de isolamentos caracterizados nos próximos testes.....	16
3.4. Caracterização fisiológica e bioquímica de uma colecção de isolamentos de <i>Pseudomonas syringae</i>	18
3.5. Caracterização serológica de uma colecção de isolamentos de <i>Pseudomonas syringae</i>	22
3.6. Caracterização da patogenicidade de uma colecção de isolamentos.....	24
3.7. Caracterização biomolecular e metodologias utilizadas (fingerprints).....	28
4. Resultados e Discussão.....	35
4.1. Isolamento das culturas bacterianas.....	35
4.2. Caracterização fisiológica e bioquímica.....	36
4.3. Caracterização serológica.....	38

4.4. Caracterização da patogenicidade.....	42
4.5. Caracterização biomolecular.....	48
5. Conclusões.....	54
6. Referências Bibliográficas.....	57

ANEXOS

Resumo

O cancro bacteriano tem vindo a afectar gravemente a cerejeira (*Prunus avium*), limitando assim as plantações nos últimos anos. A doença é causada pela bactéria *Pseudomonas syringae*, que tem causado o cancro bacteriano em cerejeiras, desde pelo menos o início do século XX.

Foram visitados 6 viveiros. De apenas um local foi possível obter 3 culturas que foram utilizadas posteriormente em testes de diagnóstico, juntamente com outros 48 isolamentos de *Pseudomonas syringae* da colecção de culturas do HRI. A detecção da bactéria em viveiros, como foi o caso, é particularmente grave.

As técnicas de diagnóstico testadas basearam-se em testes fisiológicos e bioquímicos, serológicos (ELISA indirecto e aglutinação) e moleculares (REP-PCR).

Os testes fisiológicos e bioquímicos conseguiram identificar facilmente a bactéria ao nível da espécie, no entanto, surgiram algumas dúvidas em relação à patovar, dificuldade acrescida devido à forte presença de estirpes intermédias. Certamente será necessário o desenvolvimento de mais trabalhos ao nível da taxonomia. Apesar do REP-PCR ter sido bastante variável para permitir a identificação de isolamentos de *P. s. pv. syringae*, pôde no entanto ser usado para os distinguir das formas típicas de *P. s. pv. morsprunorum*.

O teste ELISA indirecto parece ser o que apresentou melhores resultados. No entanto, o teste da aglutinação com *Staphylococcus aureus*, usado com um antissoro de boa especificidade, consegue discriminar facilmente a espécie como também a patovar. Havendo a vantagem deste último método ser bastante mais simples, rápido e económico.

Palavras-chave: *Pseudomonas syringae*; cancro bacteriano; cerejeira; REP-PCR; teste de aglutinação com *Staphylococcus aureus*.