

Estabelecimento da técnica de Nested-PCR na Embrapa Mandioca e Fruticultura para a detecção de *Candidatus Liberibacter* spp.

¹Karina Vieira Chiacchio Velame; ²Eduardo Chumbinho de Andrade; ²Cristiane de Jesus Barbosa

¹Bolsista Fapesb/Pacto-Federativo, Empresa Baiana de desenvolvimento Agrícola-EBDA; ²Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: kvchiacchio@ig.com.br, eandrade@cnpmf.embrapa.br, barbosa@cnpmf.embrapa.br

O *Huanglongbing* (HLB) é a mais devastadora doença dos citros no mundo. No Brasil foi constatada, primeiramente, no estado de São Paulo e está causada pelas espécies *Candidatus Liberibacter asiaticus*, originária de países asiáticos e *Candidatus L. americanus*, relatada no Brasil. O psílideo *Diaphorina citri* é o principal responsável pela transmissão e disseminação da doença nas nossas condições, que também pode ser disseminada pelo material propagativo infectado. O diagnóstico através da técnica de PCR tem sido amplamente utilizado para a detecção destes patógenos. No entanto, a aplicação deste método para a detecção de HLB, particularmente para a detecção precoce, pode ser inconsistente devido as baixas concentrações da bactéria nos tecidos das plantas e no tecido do inseto vetor, levando, muitas vezes, a resultados falso-negativo. O método de Nested-PCR tem sido utilizada para melhorar a sensibilidade na detecção do HLB, devido a introdução de um segundo par de *primers*, resultando na amplificação do material previamente amplificado, que leva ao aumento significativo na sensibilidade de detecção. O objetivo deste trabalho foi estabelecer a técnica de Nested-PCR para a detecção de *Candidatus Liberibacter* spp. no Laboratório de Virologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para a detecção da bactéria foram utilizadas amostras de DNA extraídas de amostras provenientes de psílios infectados provenientes de São Paulo. Para as amplificações foram utilizados os pares de oligonucleotídeos OMP1F e OMP1R na primeira amplificação e OMP2F e OMP2R para a segunda, ambas com 35 ciclos. Os produtos da amplificação final foram avaliadas em gel de agarose a 1%. Pode-se observar que a técnica foi mais sensível na detecção de amostras de psílios infectivos quando comparado com o método de PCR convencional que vinha sendo utilizado, sendo estabelecida para os trabalhos de monitoramento da presença da bactéria na Bahia e Sergipe.

Palavras chave: *Diaphorina citri*; HLB; psílideo
