

Implementação de um método de detecção molecular de *Xylella fastidiosa* em plantas de citros e insetos vetores

Josene Brandão Negreiros de Jesus Silva¹; Emanuel Felipe de Medeiros²; Ricardo Lopes de Melo²; Cristiane de Jesus Barbosa⁴; Antonio Souza do Nascimento⁴

¹Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Professor do IF Baiano; ⁴Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: josene.negreiros@hotmail.com, emanuelfelipe@embrapa.br, ricardolopesdemelo@yahoo.com.br, antonio-souza.nascimento@embrapa.br

A Clorose Variegada dos Citros (CVC) ou amarelinho é uma das principais doenças que afeta os pomares de citros no Brasil. O agente causal da doença é a bactéria *Xylella fastidiosa*, limitada ao xilema das plantas e de crescimento lento. A bactéria é transmitida por enxertia ou por cigarrinhas de xilema das famílias Cicadellidae e Cercopidae. O objetivo deste trabalho é implementar um método de detecção de *X. fastidiosa* em plantas de citros e no inseto vetor da CVC. Para detecção da bactéria na planta cítrica (laranja), foram utilizadas amostras de plantas enxertadas com borbulhas sadias, com borbulhas de plantas com CVC, procedentes do Centro Experimental de Umbaúba-SE, e amostras de plantas de pomar infectado pela CVC da Fazenda Gravatá, em Governador Mangabeira. A nervura das folhas mais jovens foram maceradas utilizando cadinho, nitrogênio líquido e posteriormente adicionadas em tubos de 1,5 mL com tampão de extração e tampão de precipitação CTAB. Após a extração o DNA foi quantificado e amplificado utilizando *primers* específicos para a *X. Fastidiosa* (272-1: 5'AGCGGGCCAATATTCAATTGC3'; e 272-2: 5'AGCGGGCCAAAACGATGCGTG3'). Para a detecção no inseto vetor, foram colocadas cigarrinhas inteiras do gênero *Acrogonia* e apenas a cabeça das cigarrinhas do gênero *Homalodisca* em tubos de 1,5 mL com tampão (1M Tris-HCl pH 7,5; 0,5M EDTA; H₂O) e adicionadas duas *beads* magnéticas em cada tubo para maceração. Após maceração, foi utilizado proteinase K e Kits Promega (Nuclei Lysis Solution e Protein Precipitation solution) para a extração do DNA. O mesmo foi quantificado e submetido a PCR com *primers* específicos para a *X. fastidiosa*. Espera-se obter uma validação de método de detecção molecular utilizando *Nested* PCR com os *primers* externos (272-1: 5'AGCGGGCCAATATTCAATTGC3'; e 272-2: 5'AGCGGGCCAAAACGATGCGTG3') e *primers* internos (272-1 int: 5' CTGCACTTACCCAATGCATCG3'; e 272-2 int: 5' GCCGCTTCGGAGAGCATTCT3') específicos para a *X. fastidiosa* e *Real Time* PCR com possibilidade de obter ensaios de transmissão.

Palavras-chave: CVC; cigarrinhas de xilema; PCR;