

Avaliação de híbridos de citros à infecção pelo *Citrus tristeza virus* (CTV)

Danielle de Campos Vieira Barbosa¹; Walter dos Santos Soares Filho²; Cristiane de Jesus Barbosa²

¹Estudante de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, daniellevieira_93@live.com; ²Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, walter.soares@embrapa.br, cristiane.barbosa@embrapa.br.

A citricultura configura-se como uma das atividades mais importantes para o desenvolvimento agrícola brasileiro, que lidera o mercado de exportação mundial. A tristeza dos citros é uma doença endêmica causada pelo *Citrus tristeza virus* (CTV), que é transmitido pelo pulgão preto dos citros, *Toxoptera citricida* (Kirkaldy). O CTV causa diversos sintomas, destacando-se entre eles depressões rasas e alongadas nos lenhos dos ramos (*stem pitting*). A praga foi introduzida desde 1947, gerando enormes prejuízos econômicos. O controle da tristeza é feito, principalmente, pela utilização de porta-enxertos tolerantes. Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de 100 híbridos de porta-enxerto de citros, gerados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, quanto à infecção natural pelo CTV. Amostras de cada híbrido foram coletadas no campo experimental e casas teladas da Embrapa em Cruz das Almas, BA. A amostra foi composta por 10 ramos novos, coletados em diferentes lados da planta a ser avaliada. A avaliação da infecção pelo CTV foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Campo Avançado da Embrapa no CETAB/SEAGRI, em Salvador, BA. As amostras inicialmente foram avaliadas por sorologia, utilizando a técnica de ELISA indireto, com antissoro policlonal contra o CTV. Entretanto, as que apresentaram resultados negativos no teste sorológico, foram também avaliadas por RT-PCR. Para tanto, foi realizada a extração de dsRNA a partir da casca de ramos de cada amostra. A extração de dsRNA foi feita com nitrogênio líquido e o precipitado final foi ressuspendido em 50ul de água livre de RNase, tratados com DNase (Promega®). Na reação de transcrição reversa (RT) foi utilizada a enzima M-MLV (Promega®), de acordo com as recomendações do fabricante. Utilizou-se nessa etapa 5ul do dsRNA obtido, primer randômico (250ng/ul), dNTP (10mM), tampão M-MLV, RNase out e M-MLV, totalizando um volume de 25ul. Para PCR, utilizou-se 3ul do DNA obtido na RT, dNTP (2,5mM), tampão Tris/KCl (10x), MgCl₂ (50mM), Taq polimerase (5U/ul) e os primers específicos para o CTV F-CN119 (5' AGATCTACCATGGACGACGAAACAAAG3') e R-CN120 (5' GAATTCGCGGCCGCTCAACGTGTGTTAAATTTCC 3'), para um volume final de 25ul. O ciclo de reação adotado foi de 94°C/2min, 55°C/30seg e 72°C/1min, respectivamente. Os produtos da PCR foram aplicados em gel de agarose 1,5% com TAE e submetidos à eletroforese. A maioria dos híbridos estava infectada com o CTV e, do total de híbridos avaliados, 37 foram negativos para a presença do vírus. Avaliações posteriores serão realizadas para avaliação de sintomas e estabelecimento da tolerância ou intolerância dos híbridos.

Significado e impacto do trabalho: Apesar de atualmente controlada, a tristeza dos citros constitui ainda uma ameaça aos produtores de citros, já que é endêmica no Brasil. Diante desse fato, a avaliação do comportamento de híbridos gerados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa em relação ao CTV, é uma etapa determinante na seleção de novas variedades.