

Indexação de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Citros da Embrapa para bactérias sistêmicas

Henrique Castro Gama¹; Orlando Sampaio Passos²; Cristiane de Jesus Barbosa²

¹Estudante de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Bahia, hcastrogama@gmail.com;

²Pesquisador(a) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, cristiane.barbosa@embrapa.br

A citricultura é uma das atividades mais importantes para o agronegócio brasileiro, que lidera o *ranking* de exportação mundial de citros. A Bahia é o segundo maior produtor de citros do Brasil. Esta cultura possui importância social, uma vez que é de natureza familiar. Dentre as principais doenças que acometem os pomares dos citros no Brasil, destacam-se o *Huanglongbing* (HLB) e a Clorose Variegada dos Citros (CVC). Comumente chamado de *greening* dos citros, o HLB tem como agente causal, no Brasil, as espécies bacterianas gram-negativas *Candidatus Liberibacter asiaticus*, e *Ca. L. americanus*. Considerada a doença mais importante e destrutiva para a produção mundial de citros, foi registrada no estado de São Paulo em 2004, configurando-se como a principal ameaça fitossanitária aos pomares baianos. A CVC, doença também conhecida como Amarelinho, é causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*, bactéria gram-negativa do tipo bastonete, restrita ao xilema vegetal. Na Bahia, a CVC teve seu primeiro registro em 1997, nos pomares comerciais da região do Litoral Norte e, em 2009, foi registrada também na região do Recôncavo Sul. De grande importância econômica, essas doenças contribuíram para a erradicação de 39 milhões de plantas nos estados de Minas Gerais e São Paulo até 2009, provocando o aumento exponencial no uso de agrotóxicos para o controle. O Objetivo desse trabalho foi indexar acessos do banco ativo de germoplasma de citros da Embrapa (BAG-Citros) para bactérias sistêmicas. Para tanto, amostras foliares de acessos do BAG-Citros da Embrapa foram coletadas e submetidas à extração do DNA total, maceração com nitrogênio líquido, precipitação com álcool Isopropílico e ressuspensão com tampão TE. Para amplificação do DNA da *X. fastidiosa* foram utilizados os *primers* específicos RST31 e RST33, e LPas e RPs para amplificação da *Ca. L. asiaticus*. Nos ciclos de reação para amplificação do DNA de *X. fastidiosa*, a desnaturação ocorreu a 94°C inicialmente por 3 minutos e em 35 ciclos de 30 segundos. A temperatura para o anelamento foi de 55°C em 35 ciclos com duração de 30 segundos cada. E a extensão ocorreu a 72°C em 35 ciclos de 45 segundos, finalizando com 5 minutos. Os ciclos para *Ca. L. asiaticus* envolveram uma desnaturação inicial de 3 minutos a 94°C e 35 ciclos de 30 segundos. O anelamento foi realizado a 60°C em 35 ciclos de 45 segundos. A temperatura utilizada para extensão foi de 72°C durante 35 ciclos de 50 segundos, finalizando em 10 minutos. Após amplificação, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose de 1,5%, a 110V por duas horas. Ao todo foram analisados 500 acessos para *X. fastidiosa* e 100 acessos para *Ca. L. asiaticus*, por meio do diagnóstico molecular, e todos foram negativos para presença de DNA de ambos agentes. Os controles positivos apresentaram fragmentos esperados de, aproximadamente, 750pb e 960pb, respectivamente. A Embrapa cumpre papel importante na cadeia de produção dos citros, com a distribuição de material propagativo para todo o Brasil. Assim, fornecer o *status* de acessos sabidamente sadios ao BAG-Citros contribui para a sanidade dos nossos pomares.

Significado e impacto do trabalho: A indexação dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Citros para a ausência de bactérias sistêmicas agentes do *Huanglongbing* e da clorose variegada dos citros garante a sanidade do material propagativo de citros que é distribuído pela Embrapa para todo o Brasil. Assim, o trabalho contribui para a redução da disseminação de doenças nos pomares comerciais, além de assegurar a qualidade da produção citrícola do estado da Bahia e do Brasil.