

## Estabelecimento da técnica de RT-PCR para detecção do *Citrus tristeza virus*

Marcela Passos Cavalcanti<sup>1</sup>; Cristiane de Jesus Barbosa<sup>2</sup>; Yanah Sacha Eisenbach Silva<sup>3</sup>; Emanuel Felipe Medeiros de Abreu<sup>2</sup>; Luciana Veiga Barbosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, funcionária Seagri, estudante de mestrado do Programa de Pós graduação de Genética e Biodiversidade; <sup>2</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, <sup>3</sup>Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia  
E-mails: marcelapcavalcanti@hotmail.com; cristiane.barbosa@embrapa.br; yanahsacha@gmail.com; emanuel.abreu@embrapa.br; veiga@ufba.br

A citricultura é uma das mais importantes atividades do agronegócio brasileiro. O Brasil é o maior produtor mundial de citros e a Bahia ocupa o segundo lugar na produção de frutas cítricas brasileiras, que são produzidas, em base familiar, em quase todas as regiões do Estado, o que disponibiliza emprego para cerca de 100 mil trabalhadores na sua cadeia produtiva. A cultura dos citros está suscetível a um grande número de doenças que podem tornar-se fatores limitantes. Em nossas condições, uma das principais doenças é a Tristeza dos citros, causada por isolados agressivos do vírus da tristeza dos citros (*Citrus tristeza virus*, CTV). O CTV é uma virose de grande importância econômica nessa cultura, podendo infectar praticamente todas as espécies, cultivares e híbridos de citros, sendo endêmico no Brasil e transmitido de forma semipersistente pelo pulgão preto dos citros (*Toxoptera citricidus* Kirkaldy) e material propagativo infectado. O presente estudo teve como objetivo estabelecer a técnica de detecção do CTV, por meio da transcrição reversa e amplificação mediante reação em cadeia da DNA Polimerase (RT-PCR), no Laboratório de Biologia Molecular do Campos Avançado da Embrapa, na EBDA, em Salvador, BA. Para este estudo, foram utilizadas, como amostras, ramos novos coletados em plantas de laranja doce (*Citrus aurantium* L. Osbeck.), da variedade Pera C21, estabelecidas em três diferentes regiões ecológicas da Bahia. A extração de RNA total foi realizada a partir da casca dos ramos coletados, que foram extraídos em trizol, clorofórmio e isopropanol. A síntese da primeira fita de cDNA foi feita utilizando-se a M-MLV-RT (Invitrogen) e primer randômico (Invitrogen), com tratamento prévio do RNA a 65 °C durante 10 minutos e incubação da reação a 37 °C durante 1 hora. A PCR foi efetuada com *primers* específicos: F-CN 119 (5' AGATCTACCATGGACGACGAAACAAAG3') e R-CN120 (5' GAATTCGCGGCCGCTCAACGTGTGTTAAATTTCC 3'), em ciclos de: 94 °C/2 min; 35 ciclos: 94 °C/30 s, 55 °C/30 s, 72 °C/60 s; e 72 °C/5 min. Os produtos da reação de amplificação foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose 1,5% contendo 0,5 µg / mL de brometo de etídeo. Em todas as amostras avaliadas foi possível a detecção dos produtos de amplificação esperados para o CTV com os primers utilizados, de aproximadamente 672 pares de bases.

**Palavras-chave:** detecção; virologia; fitossanidade.