

Híbridos de citros resistentes ao *Citrus tristeza virus*

Danielle de Campos Vieira Barbosa¹; Walter dos Santos Soares Filho²,
Hayala Caroline Silva Ferreira Gomes³, Lizziane Gomes Leal Santana⁴, Cristiane de Jesus Barbosa²

¹Estudante de Medicina Veterinária Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, daniellevieira_93@live.com;

²Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, cristiane.barbosa@embrapa.br;

³Estudante de Medicina Veterinária Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA,

hayala_caroline@hotmail.com

⁴ Estudante da UFRB, Cruz das Almas, BA, lizzianegomes@gmail.com

O Brasil é o maior produtor de citros do mundo, sendo essa cultura de grande importância econômica e social. A Tristeza dos citros, causada pelo *Citrus tristeza virus* (CTV), é uma das principais doenças que afeta os pomares brasileiros. Introduzida no país em 1947, foi responsável por dizimar cerca de 10 milhões de plantas. Atualmente, a doença é controlada, principalmente, pelo uso de porta-enxertos tolerantes ao patógeno. Em função disto é importante avaliar todos os híbridos de porta-enxertos de citros gerados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura quanto ao comportamento em relação ao CTV. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de híbridos gerados neste programa, em condições de infecção natural com o CTV. Os trabalhos para detecção do vírus foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Campo Avançado da Embrapa em Salvador. Foi utilizado o teste sorológico de Elisa indireto (Indirect *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e empregou-se antissoro policlonal contra o CTV diluído a 1:10000, fornecido pelo Centro de Citricultura Sylvio Moreira. Na sorologia foram avaliadas 90 amostras de híbridos de citros, que foram maceradas em tampão carbonato de sódio, diluídas em 1:100 (p/v) e aplicadas em duas repetições por placa. Como controles negativo e positivo utilizaram-se, respectivamente, amostras de cascas de ramos do *P. trifoliata* e da limeira ácida 'Galego' (*Citrus aurantifolia*), naturalmente infectada. O antissoro conjugado com fosfatase alcalina *goat-ant-rabbit* IgG foi diluído em 1:1000 e as leituras de absorbância realizadas na leitora de placas de ELISA (TP Washer NM - Thermoplate), após dez minutos de reação com tampão de revelação contendo dietanolamina. Alguns híbridos também foram avaliados pela técnica da RT-PCR, em que primeiramente foi feita a extração do RNA total com nitrogênio líquido e ressuscitado em 50 µl de água livre de Rnase. Por conseguinte, realizou-se a transcrição reversa (RT) baseada no protocolo da Invitrogen®, utilizando 5 µl do RNA tratado, primer randômico, tampão FSB 5x, DTT (0,1M), RNase out/innibitor e M-MLV para um volume final de 20 µl e levados ao termociclador a 25 °C / 10 min e 37 °C / 50 min, além de 70 °C / 15 min para finalizar a reação. A PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi realizada para um volume final de 25 µl, utilizando os primers específicos F-CN119 (5' AGATCTACCATGGACGACGAAACAAAG3') e R-CN120 (5' GAATTCGCGGCCGCTCAACGTGTGTTAAATTTCC 3'), dNTP (2,5 mM) e MgCl₂ (25 mM), perfazendo as etapas de desnaturação, anelamento e extensão com temperaturas de 94 °C / 2 min, 55 °C / 30 seg e 72 °C / 1 min, respectivamente. Os produtos da PCR foram aplicados em gel de agarose 2% com TAE e submetidas à eletroforese. Foram avaliados 90 híbridos, sendo a maioria resistente ao CTV.

Significado e impacto do trabalho:

A tristeza dos citros é endêmica no país. Apesar de hoje ser controlada, ainda constitui uma ameaça aos produtores de citros. Por consequência todos os híbridos gerados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura devem ser avaliados quanto ao comportamento frente ao CTV.