

Porta-enxertos híbridos de citros tolerantes ao *Citrus tristeza vírus* (CTV)

Henrique Cardoso Batista Brandão¹; Ana Laura Santos Anjos²; Walter dos Santos Soares Filho³; Alessandra Selbach Schnadelbach⁴; Cristiane de Jesus Barbosa⁵

¹Estudante de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, henriquebrandao@live.com, Bolsista FAPESB;

²Estudante de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, lauraanjos123@hotmail.com, Estagiária Seagri;

³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Salvador, ; ⁴Professora do Instituto de Biologia da UFBA;

⁵Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Salvador, cristiane.barbosa@embrapa.br

A citricultura brasileira 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 controle da tristeza é feito, principalmente, pela utilização de porta-enxertos tolerantes ao CTV. Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de 50 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. A mostra estava composta por 10 ramos novos, coletados em diferentes quadrantes da planta, que foram avaliados quanto à presença de caneluras por escala de notas: 1. Ausência de caneluras; 2. Presença de caneluras esparsas; 3. Número intermediário de caneluras; 4. Várias caneluras superficiais ou poucas caneluras profundas; 5. Toda a superfície do ramo coberta por caneluras superficiais ou profundas. A avaliação da infecção pelo CTV foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Campo Avançado da Embrapa no CETAB/Seagri-BA. As amostras inicialmente foram avaliadas por sorologia, utilizando a técnica de ELISA indireto, com antissoro policlonal contra o CTV. Entretanto, as amostras 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' GAATTTCGCGCCGCTCAACGTGTGTTAAATTTCC 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. A maioria dos híbridos avaliados foi suscetível ao CTV, mas não desenvolveram os sintomas de canelura, sendo considerados tolerantes ao patógeno.

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.