

## MONITORAMENTO DE BACTÉRIAS SISTÊMICAS EM ACESSOS DE CITROS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA

Gama, Henrique C.<sup>(1)</sup>; Patrocínio, Epaminondas<sup>(2)</sup>; Passos, Orlando S.<sup>(2)</sup>; Barbosa, Cristiane J.<sup>(2)</sup>.

(1) Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, bolsista IC-Fapesb/Embrapa; (2) Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura; hcastrogama@gmail.com.

A citricultura configura-se como uma das atividades mais importantes para o desenvolvimento agrícola brasileiro, que lidera o ranking de exportação mundial. A Bahia é o terceiro maior produtor nacional de citros, cuja cultura é essencialmente familiar. A clorose variegada dos citros (CVC), causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* Wells et al., e o *Huanglongbing* (HLB), causada pela bactéria *Candidatus Liberibacter* spp., são doenças de grande importância econômica para os citros. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *X. fastidiosa* e *Ca. L. asiaticus* nos acessos de citros do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa (BAG-Citros), por meio da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Para tanto, amostras foliares de acessos do BAG-Citros da Embrapa foram coletadas, 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* utilizou-se os primers específicos RST31 e RST33, e LPas e RPas para amplificação da *Ca. L. asiaticus*. Nos ciclos de reação para *X. fastidiosa*, a desnaturação ocorreu a 94°C inicialmente por 3 minutos e em 35 ciclos de 30 segundos. A temperatura utilizada no 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 em 35 ciclos de 45 segundos a 60°C. 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 02 horas. Ao todo foram analisados 300 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 os fragmentos esperados de, aproximadamente, 750pb e 960pb, respectivamente. A Embrapa é responsável pela distribuição de material propagativo de citros para todo Brasil. Dessa forma, a certificação da sanidade dos acessos do BAG-Citros é importante, contribuindo assim para a defesa fitossanitária nacional.