



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Setembro de 2014 • Número 232

Dez anos do Curso de Doenças de Citros e seu Manejo

Idealizado e coordenado na sua primeira edição, em 2005, pela Pesquisadora Lenice Magali do Nascimento Abramo, o Curso de Doenças dos Citros e seu Manejo completou dez anos de história. Nesse período, mais de 600 alunos passaram pelo Centro de Citricultura e receberam treinamento para uma correta identificação e manejo das principais doenças da cultura dos citros.

A atual edição do evento ocorreu entre os dias 23 e 25 de setembro e contou com a colaboração de profissionais do Instituto Biológico (UPD/Sorocaba), Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus) e do próprio Centro. Vinte alunos participaram do evento, sendo técnicos e produtores de São Paulo e da Argentina. Foram proferidas por especialistas no assunto onze aulas teóricas e duas práticas, visando o correto diagnóstico das doenças cítricas e, conseqüentemente, seu manejo.

No primeiro dia abordaram-se as doenças fúngicas (podridão floral dos citros, verrugose, melanose, mancha preta dos citros, rubelose e mancha marrom de alternaria), gomose de *Phytophthora* e as doenças de pós-colheita.

As palestras do segundo dia centraram-se em doenças bacterianas (*huanglongbing* - HLB, clorose variegada dos citros - CVC e cancro cítrico) e no manejo de cigarrinhas

e psídeos, insetos vetores de CVC e HLB, respectivamente. Houve ainda aula prática para identificação dessas doenças.

No último dia inicialmente enfocou-se as doenças virais (tristeza dos citros - CTV e leprose dos citros), sendo que, no caso da leprose, verificou-se principalmente o manejo do ácaro vetor. Em seguida, foram abordadas doenças relacionadas à porta-enxertos, como declínio e morte súbita dos citros, e também o programa de matrizes e produção de mudas certificadas em São Paulo. O período da



tarde contou com prática no campo para identificação de sintomas de HLB, psílido e manejo da doença, o que ocorreu numa propriedade agrícola no município de Conchal, SP, com apoio do Fundecitrus.

Após nove anos sob a coordenação do Pesquisador Fernando Alves de Azevedo, a partir de 2015 o evento será organizado pela Pesquisadora Katia Cristina Kupper, coordenadora do Programa de Pesquisa e Desenvolvimento em Fitossanidade do Centro de Citricultura.

Editorial

A dinâmica de um programa

Há mais de 20 anos o Centro de Citricultura iniciou um programa de hibridação entre os mais importantes cultivares de citros da citricultura brasileira. Tal programa demandou um ajuste de tecnologias para seu sucesso, incluindo o desenvolvimento de marcadores moleculares para seleção de plantas híbridas, salvamento de híbridos, multiplicação por sobre enxertia em plantas adultas para acelerar o “envelhecimento” fisiológico de modo a favorecer florescimento e frutificação para superar a juvenildade. Muitos pesquisadores e um sem número de alunos trabalharam na fase preliminar desse programa, que pode ser considerado o mais ousado e persistente programa de melhoramento de citros no mundo, principalmente porque gerou um grande número de novas combinações de potenciais cultivares copa, até então inusitados, e de porta-enxertos, todos baseados em parentais comerciais, com as laranja Pera e Valência, limão Cravo, tangor Murcott, tangerinas Ponkan e Cravo, tangerina Sunki e Poncirus trifoliata.

Frequentemente considerado atividade para o serviço público, principalmente por seu longo tempo de duração, esse programa de melhoramento tem sido único no Brasil ao incorporar novas tecnologias, especialmente mapas genéticos para o estudo da herança de tolerância ou suscetibilidade a doenças, foco principal do programa. Ao longo desse período foram gerados dezenas de novos híbridos potenciais para cultivares copa ou porta-enxertos, vários deles já em avaliação. Os novos genótipos gerados praticamente dobraram o Banco Ativo de Germoplasma (BAG Citros IAC), localizado no Centro de Citricultura, ampliando-se de 1700 para mais de 3300 acessos. Evidentemente que não se cogita testá-los todos imediatamente, face ao grande número de combinações, em diferentes ambientes, que seriam necessárias para seleção dos melhores indivíduos.

Os desafios em gerar e avaliar germoplasma de citros são imensos, e não podem ficar somente a cargo do Centro de Citricultura. A participação de produtores parceiros, comprometidos com inovação tecnológica e com a garantia de manutenção de experimentos em suas propriedades, pelo menos para colheita de cinco safras, é essencial e crítica para a ampliação e divulgação desse produto tecnológico. Sem a participação do usuário dessa tecnologia o programa corre o risco de se tornar somente uma atividade acadêmica. E nunca foi esse seu objetivo.

Por sempre acreditar na viabilidade técnica e científica de um programa de melhoramento dessa natureza foi que o Centro de Citricultura o iniciou e o mantém como uma de suas mais importantes atividades. No entanto, sem o produtor que possa utilizá-lo ele perde grande parte de seu sentido.

Notas

Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio)

O Pesquisador Marcos Antonio Machado foi nomeado membro suplente da CTNBio, como representante Especialista da Área Vegetal. A CTNBio é uma instância colegiada multidisciplinar de caráter consultivo e deliberativo, integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia, constituída para prestar apoio técnico e de assessoramento ao Governo Federal na formulação, atualização e implementação da Política Nacional de Biossegurança (PNB) relativa a Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e seus derivados, bem como no estabelecimento de normas técnicas de segurança e de pareceres técnicos referentes à autorização para atividades que envolvam pesquisa e uso comercial de OGM e seus derivados, com base na avaliação de seu risco zootossanitário, à saúde humana e ao meio ambiente.

FertBio 2014

Esse evento é promovido a cada dois anos pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS), para congregar pesquisadores das áreas de Fertilidade e Biologia do Solo. Ocorreu em Araxá, MG, de 15 a 19 de setembro e contou com as participações do Pesquisador Dirceu Mattos Jr, que proferiu palestra sobre os recentes avanços da pesquisa do Instituto Agronômico sobre fósforo na citricultura e dos estudantes de pós-graduação do IAC, Franz Walter Rieger Hippler e Geisa Lima Mesquita, que apresentaram resultados recentes de estudos com micronutrientes em citros.

Prêmio Internacional IPNI

A doutoranda do Programa de Pós-graduação do IAC, Geisa Lima Mesquita, recebeu o “International Plant Nutrition Institute (IPNI) Scholar Award 2014” em reconhecimento às suas realizações acadêmicas e pessoais. Seu trabalho de pesquisa referiu-se à absorção e aspectos anatômicos e fisiológicos de boro em citros. O prêmio é concedido a estudantes de pós-graduação em ciências sobre nutrição mineral de plantas e manejo de nutrientes na agricultura, como: agronomia, horticultura, ecologia, fertilidade do solo, química do solo, fisiologia da produção, ciências ambientais, entre outros. O programa Scholar Award é possível através do apoio das empresas associadas ao IPNI: produtores primários de nitrogênio, fósforo, potássio e outros fertilizantes.

Aulas

No dia 19 de setembro, o Pesquisador Fernando Alves de Azevedo participou do minicurso “Escrita científica”, ministrado pelo professor Valtencir Zucolotto, do Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo. O evento foi realizado em Araras, SP, no campus da Universidade Federal de São Carlos.

Em 29 de setembro, alunos do curso de graduação em Engenharia Agrônoma da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), visitaram o Centro de Citricultura. Os alunos cursam a disciplina Doenças de Plantas Frutíferas e Hortícolas, ministrada pelo Prof. Dr. José Otávio Machado Menten, do Departamento de Fitopatologia e Nematologia e foram recepcionados pelo Eng. Agr. José Dagoberto De Negri e pelo Pesquisador Fernando Alves de Azevedo. O Pós doutorando Evandro Henrique Schinor ministrou aula prática sobre as principais doenças da cultura dos citros e seus respectivos manejos, por um período de duas horas. Na sequência, os alunos conheceram as dependências e os diagnósticos efetuados pela Clínica Fitopatológica de Citros, sob a responsabilidade do Pesquisador Helvécio Della Coletta Filho e da técnica Fabiana Gonçalves Rodrigues.

Participação em Bancas

No dia 9 de setembro o Pesquisador Marco Aurélio Takita participou, na condição de co-orientador, da defesa de dissertação da aluna Eloá Nava Palma, na Faculdade de Tecnologia da Unicamp, em Limeira, SP. O trabalho versou sobre a construção de uma plataforma para simulação de clonagens em plasmídeos com visualização 2D e 3D, denominado Bionut. Este trabalho de bioinformática amplia as possibilidades de pesquisas no Centro de Citricultura, através de parceria com a Faculdade de Tecnologia da Unicamp na busca de desenvolvimento de ferramentas computacionais visando a solução de problemas biológicos. Participaram da defesa o Prof. Dr. Carlos Norberto Fischer, do Departamento de Estatística, Matemática Aplicada e Computação da Unesp de Rio Claro, SP, o Prof. Dr. Luiz Camolesi Júnior e o Prof. Dr. Marco Antônio Garcia (orientador), ambos da Faculdade de Tecnologia da Unicamp.

No dia 12 de setembro, a Pesquisadora Raquel Luciana Boscariol Camargo participou da banca de qualificação de doutorado do aluno Rafael Fávero Peixoto Junior, do curso de Genética da Faculdade de Medicina da USP, em Ribeirão Preto/SP. O trabalho de tese desenvolvido pelo

aluno envolve fatores de transcrição em resposta ao estresse por seca, linha de pesquisa que também é estudada no Centro de Citricultura.

No dia 25 de setembro, a Pesquisadora Valdenice Moreira Novelli participou da banca de defesa de trabalho de conclusão de curso (TCC) do aluno Alex Júnior Soares, do curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas, da Uniararas, Araras, SP. O tema apresentado foi “Eficiência na aquisição e inoculação do vírus da leprose dos citros por *Brevipalpus phoenicis*”, contribuindo com informações importantes para os estudos epidemiológicos e experimentais sobre o patossistema leprose dos citros.

O Pesquisador Fernando Alves de Azevedo participou, no dia 29 de setembro, do exame de qualificação do aluno Fernando Yoshida, mestrando do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Ambiente da Universidade Federal de São Carlos (Araras, SP).

Seminário Científico

No dia 30 de setembro, a Pesquisadora Lenice Magali Nascimento Abramo ministrou o seminário científico “Aplicação de ceras em pós-colheita de tangerinas Ponkan e suas implicações nas alterações

de sabor. Apresentou resultados de pesquisa apoiada pela Fapesp, que configuram relevantes contribuições aos produtores ao sugerir os melhores tratamentos no processo de pós-colheita de tangerinas e afins.

Colombianos visitam o Centro de Citricultura

No dia 17 de setembro, comitiva da empresa colombiana Alpina e da Givaudan (Brasil e Colômbia), esteve visitando o Centro de Citricultura para conhecer os trabalhos desenvolvidos e obter uma avaliação geral sobre a citricultura brasileira. Estiveram presentes um diretor, uma gerente e uma estrategista de investigação e desenvolvimento da Alpina, juntamente com profissionais da Givaudan. Os visitantes foram recepcionados pela Pesquisadora Marinês Bastianel e pelo Eng. Agr. José Dagoberto De Negri, que juntamente com outros pesquisadores do Centro, ministraram palestras envolvendo aspectos econômicos, manejo de pomares, fitossanidade e variedades. No período da tarde ocorreu visita a um pomar de citros na região, onde se pode constatar cultivo e produção de citros, colheita e efeitos da seca nos pomares de São Paulo.

Pesquisa

Criopreservação de germoplasma de citros

O Banco Ativo de Germoplasma de Citros do Centro de Citricultura (BAG Citros IAC) é um dos maiores do mundo, com mais de 3.000 acessos, incluindo várias espécies de citros e gêneros afins. As coleções são mantidas principalmente em casa de vegetação, e inclui cerca de 200 acessos microenxertados *in vitro*, já aclimatados, livres de patógenos, inclusive vírus e virídeos conhecidos. Esses acessos, sadios, fornecem aos pesquisadores e membros da citricultura brasileira borbulhas e sementes de variedades de copa e de porta-enxerto para uso comercial, além de darem suporte aos programas de melhoramento, sendo usadas como fonte de germoplasma para a seleção de novas cultivares, assim como fonte de genes de interesse para cruzamentos e para outras pesquisas científicas.

As espécies vegetais podem ser conservadas por meio da técnica de criopreservação, isto é, processo pelo qual propágulos (sementes, pólen ou gemas) são resfriados rapidamente até temperaturas ultra-baixas usando nitrogênio líquido (-196 °C), tem provado ser uma estratégia bem sucedida para a conservação, na forma de réplica, de algumas coleções de germoplasma. A divisão celular e os processos metabólicos são significativamente mais lentos a esta temperatura, o que permite a preservação destes propágulos por longo tempo (dez ou mais anos).

O sucesso da criopreservação de plantas depende de se ter métodos para regenerar embriões e/ou gemas após o ultra-congelamento no nitrogênio líquido. Os embriões e as gemas são estruturas complexas e com uma composição celular heterogênea. Assim, os tratamentos criogênicos requerem uma proteção antecipada dos tecidos, para garantir a preservação da integridade estrutural.

Os métodos para a criopreservação de células, órgãos e plantas têm melhorado drasticamente desde o primeiro relato de sucesso de congelamento de células de linho, em 1968. Desde então, mais de 200 espécies de plantas já foram criopreservadas com sucesso e o número de espécies para as quais a criopreservação é rotineiramente utilizada para a conservação de germoplasma a longo prazo tem aumentado consideravelmente.

Em citros, só recentemente pesquisadores americanos relataram o desenvolvimento de um método seguro e eficaz de criopreservação de gemas axilares de citros, obtidas de plantas mantidas a campo ou em estufas. Os resultados demonstraram o sucesso deste método com média de 53% de gemas desenvolvidas, em oito espécies de *Citrus* e uma de *Fortunella*.

Rodrigo Rocha Latado

Visita Internacional

O Centro de Citricultura recebeu no dia 23 de setembro a visita dos Drs. Robert Mikkelsen, Vice-presidente de Comunicações do International Plant Nutrition Institute (IPNI), e Valter Casarin, Diretor Adjunto do IPNI Brasil. Foram recebidos pelos Pesquisadores Dirceu Mattos Jr. e Rodrigo M. Boaretto e por outros integrantes do grupo de pesquisa em fertilidade do solo e nutrição dos citros do IAC, os quais apresentaram e discutiram os trabalhos recém concluídos e em desenvolvimento pelo grupo, cujas linhas de trabalho definem melhores práticas de manejo de nutrientes na cultura, com enfoque no fundamento 4C's defendido pelo IPNI (uso do fertilizante certo, na forma certa, na dose certa e na época certa). O Dr. Mikkelsen enalteceu os conhecimentos gerados e a organização do Centro de Citricultura, assim como o prêmio “IPNI Scholar Award 2014” recebido pela estudante de doutorado Geisa Lima Mesquita, integrante do grupo.



Pesquisa Aplicada

Avaliação potencial do uso de *Bacillus thuringiensis* no manejo de *Diaphorina citri*

Dentre as doenças que acometem a citricultura, a de maior impacto é o *huanglongbing* (HLB), que no Brasil está associado principalmente à bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CaLas), transmitida pelo psilídeo *Diaphorina citri*. Como não há variedades comerciais de citros resistentes à doença, seu manejo é baseado no plantio de mudas sadias, eliminação de plantas doentes do pomar e controle químico do vetor. A frequente aplicação de pesticidas eleva o custo de produção, provoca danos ambientais e pode levar à seleção de populações resistentes do inseto. Desta forma, tem-se buscado medidas de controle alternativo do psilídeo. Dentre os diversos agentes entomopatogênicos estudados por vários grupos de pesquisa, destaca-se a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Figura 1), que produz cristais compostos por proteínas Cry e Cyt que são tóxicas contra fases imaturas de insetos, mas são inócuas ao homem e ao meio ambiente. Esta bactéria é encontrada em diversos locais, principalmente no solo. A partir do início dos anos 2000, com a descoberta de Bt

sobrevivendo endofiticamente em plantas, foram abertas novas perspectivas para o controle de insetos sugadores.

O trabalho pioneiro que buscou identificar a capacidade entomopatogênica de isolados de Bt a ninfas de *D. citri* em plântulas de citros foi realizado por Balbinotte em 2011, que testou 21 isolados do Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Destes, três foram considerados promissores. Conjuntamente, esses três isolados possuem 13 genes que codificam toxinas Cry ou Cyt, sendo que dez destes genes, clonados individualmente em isolados recombinantes de Bt, foram testados em bioensaios de mortalidade de ninfas (Figura 2). Um dos isolados, contendo a toxina 9, causou, consistentemente, a mortalidade de 83 a 93% das ninfas 120 horas após a inoculação, e de 68 a 81% 48 horas após a inoculação. A mortalidade foi confirmada de forma inequívoca através do plaqueamento/isolamento de Bt a partir de ninfas mortas e das folhas jovens de citros onde as mesmas haviam se alimentado, através de PCR usando primers específicos.

Nesse contexto, esforços estão sendo despendidos por nosso grupo de trabalho com a colaboração de diversas instituições em duas linhas de pesquisa envolvendo Bt: controle biológico tradicional do psilídeo através de formulação de bioinseticidas e produção de plantas de citros geneticamente modificadas expressando proteínas Cry/Cyt. Desta forma, sabendo-se da importância do HLB e considerando-se a potencialidade do uso de toxinas Bt para o controle de insetos, espera-se obter novas ferramentas que possam ser usadas no manejo do psilídeo.

Sob a orientação da Pesquisadora Juliana Freitas-Astúa, esses trabalhos estão sendo desenvolvidos pelas doutorandas Tatiane da Cunha e Sílvia de Oliveira Dorta, alunas no programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Esalq/USP. Desde sua concepção, os trabalhos têm sido desenvolvidos em parceria com o Pesquisadores Rose Monnerat (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) e João Roberto Spotti Lopes (Esalq/USP).

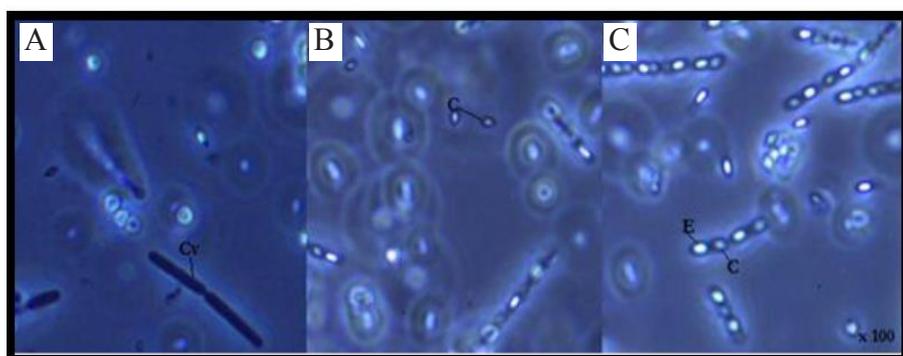


Figura 1. Estruturas de *Bacillus thuringiensis* encontradas em microscopia de contraste de fase (aumento de 1000 vezes): A) célula vegetativa (Cv); B) cristal (C) e C) esporo (E) e cristal (C). (Foto: Sílvia O. Dorta)



Figura 2. Avaliação da sobrevivência de ninfas de *Diaphorina citri* após inoculação, via drench, com isolados de Bt: A) ninfa morta, B) ninfas viva e morta, C) ninfa viva. (Foto: Sílvia O. Dorta)



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Conselho Editorial

Arthur A. Ghilardi
José Dagoberto De Negri
Marcos Antonio Machado
Vivian Michelle dos Santos

Colaboração

Dirceu Mattos Jr.
Evandro Henrique Schinor
Fernando Alves de Azevedo
Juliana Freitas-Astúa
Marco Aurélio Takita
Raquel Luciana Boscarol-Camargo
Rodrigo Rocha Latado
Sílvia de Oliveira Dorta
Tatiane da Cunha
Valdenice Moreira Novelli

Rod. Anhanguera, km 158
Caixa Postal 04, CEP 13490-970,
Cordeirópolis, SP
Fone/fax: (19) 3546-1399

www.centrodecitricultura.br
informativo@centrodecitricultura.br