



# Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Maio de 2018 • Número 276

## Programa Citricultura Nota 10 chega ao campo

Lançado em 2015, o “Citricultura Nota 10: da pesquisa para a mesa” se constitui em um programa contínuo promovido pelo Centro de Citricultura em parceria com pequenos e médios produtores, tendo sido disponibilizadas, até o momento, mais de 60 variedades copa, com aptidão para o mercado de fruta *in natura*, e porta-enxertos de citros para serem validados em uma rede de pomares pré-comerciais. Nos primeiros anos do programa foram consolidadas as parcerias com cada produtor interessado, escolhidas as variedades copas e porta-enxertos adequadas à aptidão de cada local onde os pomares seriam instalados, e a formação das mudas. Agora, quase três anos do seu lançamento os primeiros campos foram estabelecidos.

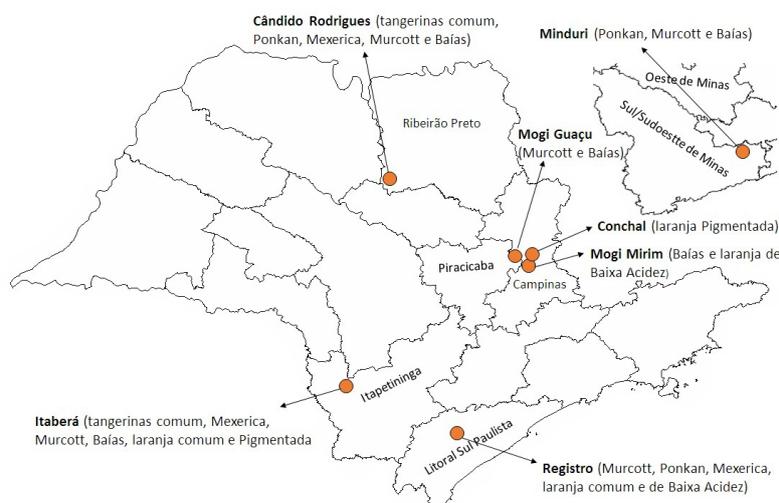
No total são 25 áreas de validação em oito diferentes locais do Estado de São Paulo e um em Minas Gerais. A fase atual é de implementação e condução dos pomares. O estabelecimento das áreas em diferentes locais, incluindo outros Estados, é uma importante fase que antecede a liberação de cultivares de citros, pois possibilita ao melhorista avaliar e selecionar

variedades em condições ambientais distintas, além de permitir amplos estudos de respostas de citros às doenças em regiões endêmicas.

O sucesso do programa pode ser avaliado pelo número de variedades e de áreas que se encontram no campo neste primeiro ciclo. Foram 40 variedades de diferentes grupos hortícolas, incluindo tangerinas comuns, tangerinas dos grupos Ponkan, Murcott e mexericas e, ainda, laranjas comuns, baías, de baixa acidez, de polpa vermelha e sanguíneas, todas selecionadas pela sua aptidão para o mercado de citros de mesa do Estado de São Paulo. Além dos principais porta-enxertos comerciais limão Cravo, citrumelo Swingle, tangerina Cleópatra e trifoliatas Rubidoux e *Flying Dragon*, foram utilizados quatro novos citrandarins (IAC 3142, IAC 3148, IAC 3182 e IAC 3299) desenvolvidos pelo programa de Melhoramento do



Centro, que agregam características de menor porte de plantas, precocidade ou retardamento de produção, qualidade físico-química de frutos e resistência à gomose de *Phytophthora* e ao déficit hídrico, entre outras. Essas características os tornam ainda mais interessantes para o desenvolvimento de uma citricultura sustentável, onde a redução do uso de defensivos químicos e otimização dos tratamentos culturais levam a melhorias na qualidade ambiental e na saúde do produtor e do consumidor dessa fruta.



## Editorial

### Um marco

Como centro de pesquisa e desenvolvimento de um produto, citros, o Centro de Citricultura não se esquece que o objetivo final do seu trabalho em ciência é levar ao usuário produtos com maior qualidade e que permitam a sustentabilidade do agronegócio da citricultura. Para tanto atua fortemente na base da citricultura: os cultivares melhorados, tanto de copa quanto de porta-enxerto. Em que pese a baixa taxa de renovação de pomares e, principalmente do quadro de variedades, o Centro entende que a continuidade do trabalho de melhoramento representa uma garantia para o citricultor no futuro.

Evidentemente que, como trabalho de pesquisa com novos cultivares, isso exige que, tanto quanto possível, os novos genótipos sejam transferidos aos produtores para que possam avaliá-los quanto a características agrônômicas, qualidade de fruta e rentabilidade. Nesse sentido, o Centro criou o Programa Citricultura Nota 10, no qual a adesão de produtores voluntários é parte essencial. Baseado na transferência de tecnologia, o Programa é regulamentado por lei e garante ao produtor e ao Centro que o material transferido será destinado ao plantio no pomar do produtor, onde ele se compromete a não reproduzi-lo sem o conhecimento da Instituição, ao mesmo tempo em que permite acesso de pesquisadores para acompanhar o desenvolvimento do pomar. Isso representa uma avanço no reconhecimento da propriedade intelectual no setor. Muito menos que estabelecer sistema de pagamento de royalties, o objetivo é estabelecer uma sistemática de reconhecimento do trabalho envolvido na geração e difusão de novos cultivares.

Como forma de garantir o bom andamento do processo, o Centro assumiu a produção das mudas, entregando-as prontas ao produtor para o plantio. O momento atual marca a liberação do primeiro lote de plantas ao produtor. Esse Informativo registra esse momento. É um marco pois representa uma forma de transferência de tecnologia aos usuários que passam a participar de sua finalização, cumprindo desse modo a missão institucional do Centro de Citricultura.

## Matéria de Capa

O grande diferencial do Programa Citricultura Nota 10 está na disponibilização de um grande número de variedades que podem ser agregadas à produção comercial de citros de mesa, ampliando não só o período de oferta da fruta, mas adicionando qualidade e aumentando a variabilidade de frutos nas prateleiras. Com exceção de pequenos nichos de mercado, poucas cultivares diferenciadas são conhecidas do público em geral, isto graças ao padrão varietal da fruta para a indústria (laranjas Pera, Valencia, Natal e Hamlin) e de poucas tangerinas, especialmente Ponkan, que resultaram no estabelecimento de um restrito quadro de cultivares que pouco representam o potencial do grupo dos citros.

O interesse e a adesão dos produtores ao Programa refletem a demanda do setor por novas variedades. É o que diz o produtor Antonio Simonetti: “O Programa Citricultura Nota 10 tem como objetivo buscar as melhores soluções em qualidade de frutas, com melhores produtividades e plantas mais resistentes à doenças. O Grupo Simonetti Citrus aposta e confia nas qualidades do Nota 10”.

É este importante e fundamental apoio por parte dos citricultores que garante a parceria, o sucesso do Programa e a



possibilidade de os produtos selecionados pela pesquisa chegarem a mesa do consumidor.

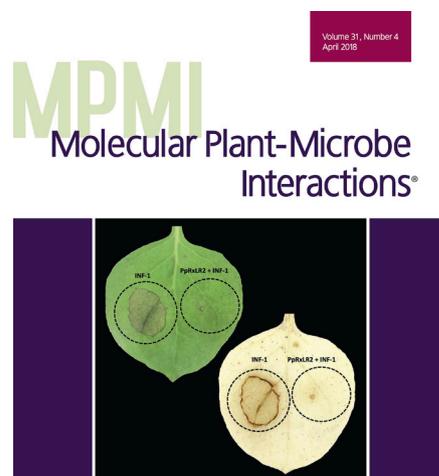
Este apoio é o que garante também a continuidade do Programa. Além das áreas já implementadas novas áreas estão sendo planejadas. Nosso intuito é estabelecer uma ampla rede de validação de variedades dos mais diferentes grupos de citros, atendendo a longo prazo não apenas a citricultura de mesa, mas a indústria de suco, principalmente NFC.

Os produtores que têm interesse em aderir ao Programa podem conhecer um pouco mais sobre as variedades disponibilizadas pelo Citricultura Nota 10, através do nosso Informativo, que desde 2016 vem divulgando mensalmente uma nova variedade com foto e uma breve descrição sobre a mesma.

### Pesquisa do Centro de Citricultura é capa da MPMI

O trabalho intitulado “*Phytophthora parasitica* effector PpRxLR2 supresses *Nicotiana benthamiana* immunity”, de autoria de Ronaldo J. D. Dalio, Heros José Máximo, Tiago Silva Oliveira, Renata Dias, Michèle Claire Breton, Henrique Leme Felizatti e Marcos Antonio Machado, foi publicado em abril, no volume 31, do periódico Molecular Plant-Microbe Interactions e escolhido para ser capa da revista. Na capa está uma das fotos que ilustra o principal resultado obtido e apresentado no trabalho pelo grupo de pesquisa do Centro de Citricultura.

O artigo publicado é fruto de dois anos de trabalho liderado pelo Pós-doutorando Ronaldo Dalio dentro da linha



de pesquisa: efetores nas interações planta-patógeno. Efeitores são moléculas que os microrganismo utilizam para modificar a fisiologia das plantas. Muitas vezes estas moléculas efetoras estão relacionadas à manipulação do sistema de defesa das plantas. Com o sistema de defesa das plantas desligado ou enfraquecido, o processo infeccioso encontra poucas barreiras bioquímicas, o que leva a uma alta susceptibilidade das plantas ao ataque destes patógenos resultando na doença e, em consequência, perdas na agricultura.

No trabalho em questão foram estudados os efetores de *P. parasitica*, sinônimo de *Phytophthora nicotianae*, que apesar de não ser o principal patógeno que acomete a citricultura brasileira, ainda é responsável por perdas significativas. Em adição, este patógeno pode ser considerado um microrganismo modelo para estudo das interações moleculares com as plantas (principalmente citros) por ser facilmente cultivado, já tem seu genoma sequenciado e o aparecimento de sintomas em plantas é obtido de maneira simples e evidente.

Nesse trabalho foram estudados os efetores do tipo RxLR. Estes efetores tem a capacidade de, através da maquinaria da própria planta, internalizar-se no citoplasma/núcleo da célula vegetal e manipular ação de proteínas e transcrição de genes relacionados a defesa. Observou-se que vários efetores RxLR são altamente secretados por *P. parasitica* durante a infecção em variedades porta-enxerto de citros como *Citrus sunki* e *Poncirus trifoliata*. Com essas informações em mãos, os pesquisadores aprofundaram o conhecimento acerca da ação destes efetores RxLR no tecido vegetal após caracterização funcional destas moléculas em plantas modelo (no caso do estudo foi utilizada plantas de *N. benthamiana*). O principal resultado obtido foi que o efector PpRxLR2 de *P. parasitica* suprime totalmente as respostas de defesa de plantas de *N. benthamiana*.

Este mesmo efector, PpRxLR2, é altamente expresso durante a infecção em citros, o que sugere que esta molécula seja a responsável pela susceptibilidade de algumas variedades de citros à *P. parasitica*. O resultado abre inúmeras possibilidades para o desenvolvimento de estratégias de controle da gomose e podridão de raízes em citros através da manipulação molecular da ação destes efetores. Além da manipulação destas moléculas objetivando a quebra da agressividade do patógeno, os pesquisadores do Centro estão atualmente

buscando o alvo bioquímico exato destes efetores nas plantas. Essa informação será de grande valia para seleção e desenvolvimento de novas variedades resistentes através de melhoramento genético ou edição de genoma.

O artigo publicado tem potencial para tornar o Laboratório de Biotecnologia do Centro em referência nacional no estudo de moléculas efetoras, já que a plataforma e fluxo de experimentos apresentada no trabalho pode ser utilizada para estudo de qualquer tipo de efector e para qualquer interação citros ou outras plantas com seus principais patógenos. No laboratório plataformas semelhantes a apresentada no artigo já estão sendo empregadas para o estudo de moléculas efetoras de outros patógenos importantes de citros, como *Candidatus Liberibacter asiaticus* (HLB) e *Phyllosticta citricarpa* (pinta preta).

A linha de pesquisa sobre efetores na interação planta-patógeno tem gerado uma série de publicações nos últimos meses. O mesmo grupo de pesquisadores e pós-graduandos do Centro também publicou mais dois artigos científicos recentemente no periódico. O trabalho de revisão Effector biology in focus: a primer for computational prediction and functional characterization, de autoria de Ronaldo J. D. Dalio, John Herlihy, Tiago S. Oliveira, John M. McDowell e Marcos A. Machado, foi desenvolvido a convite do editor da MPMI e publicado no início de 2018. Este trabalho apresentou as plataformas básicas para estudo de moléculas efetoras para qualquer microrganismo, podendo auxiliar pesquisadores no estudo de moléculas efetoras de patógenos que são responsáveis por doenças que afetam a citricultura mundial. No mesmo periódico e também no início de 2018, foi publicado o trabalho Molecular basis of *Citrus sunki* susceptibility and *Poncirus trifoliata* resistance upon *Phytophthora parasitica* attack, de autoria de Ronaldo J. D. Dalio, Heros J. Máximo, Thamara de Medeiros Azevedo, Tiago S. Oliveira, Henrique L. Felizatti, Magnólia de Araujo Campos e Marcos A. Machado. Neste trabalho foram elucidadas as bases moleculares e ações de efetores que causam as discrepantes respostas do porta-enxerto suscetível (*C. sunki*) e do resistente (*P. trifoliata*), frente ao ataque de *P. parasitica*. Os resultados deste trabalho invariavelmente podem ajudar no desenvolvimento de estratégias de controle de doenças causadas por *Phytophthora* em citros além de auxiliar ações direcionadas ao melhoramento genético de porta-enxertos.

## Pesquisa

### Toxina killer e sua aplicação no controle de fitopatógenos de citros

A atividade *killer* é um mecanismo de ação característico de leveduras, que produzem e excretam proteínas ou, glicoproteínas, que são inibidoras de células microbianas sensíveis. Pesquisas financiadas pela Fapesp apresentaram resultados prévios, promissores quanto ao uso de leveduras no controle de patógenos que ocorrem na pós-colheita de citros. Dentre as leveduras estudadas, encontra-se a *Sporobolomyces koalae* com potencial para controle da podridão azeda, causada por *Geotrichum citri-aurantii*. Com a finalidade de se conhecer mais sobre as funções desse microrganismo no ecossistema, esse estudo teve por objetivos: detectar a atividade *killer* do precipitado proteico de *S. koalae*; caracterizar bioquimicamente e funcionalmente o precipitado proteico; purificar parcialmente essa toxina *killer* e, finalmente, verificar sua ação antagônica sobre *G. citri-aurantii* e *Penicillium digitatum* (bolor verde).

Pelos resultados obtidos foi possível detectar a presença de atividade *killer* no precipitado proteico da levedura *S. koalae* contra células sensíveis de *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 1006. O precipitado proteico da levedura apresentou várias proteínas com diferentes tamanhos moleculares e, parte dessas proteínas foi positiva para atividade de  $\beta$  1,3-glucanase, quitinase e protease, podendo ser uma dessas enzimas ou, o sinergismo entre elas, o responsável pelo fator *killer*. Foi verificado, também, que a funcionalidade de suas proteínas para atividade *killer* aumenta em pH 4,9, em uma faixa de temperatura de 22 a 27° C, sendo o melhor agente precipitante dessas proteínas o etanol 80%. A purificação parcial das proteínas, que constituem o precipitado proteico de *S. koalae*, mostrou a existência de quatro bandas proteicas em uma das frações da purificação, com tamanhos aproximados que variaram de 8 a 65 kDa. No entanto, não foi observado a atividade *killer* contra os fitopatógenos testados (*G. citri-aurantii* e *P. digitatum*). Em estudos futuros, o fator *killer* de *S. koalae* será testado contra outros patógenos de citros, como mecanismo de ação e aplicação no biocontrole.

Luriany Pompeo Ferraz, doutoranda e  
Katia Cristina Kupper, Pesquisadora

## Notas

### Congresso Brasileiro de Bioquímica

O Pesquisador Marcos Antonio Machado apresentou, como convidado, palestra no Congresso Brasileiro de Bioquímica, em Joinville, SC, no dia 27 de maio. Com o tema sobre RNA interferente em *Diaphorina citri* foi apresentado um sumário da importância desse inseto como vetor da bactéria do HLB, bem como os resultados sobre silenciamento gênico

como estratégia para o controle do vetor. O trabalho faz parte do INCT Citros e está sendo conduzido pelo Pós-doutorando Diogo Manzano Galdeano, bolsista do CNPq.

### Simpósio Internacional de Greening

O Pesquisador Dirceu de Mattos Jr apresentou conferência sobre nutrição dos citros e HLB no Simpósio Internacional de Greening, realizado pelo Fundecitrus, nos dias 22 e 23 de maio, em Araraquara, SP. O evento reuniu os principais especialistas do

Brasil, Espanha, Costa Rica e Estados Unidos para debater os avanços da pesquisa e novas tecnologias para a mitigação da doença nos pomares. Entre as conferências, foram ainda relatados casos práticos de sucesso do controle da doença na citricultura no Brasil, Costa Rica e México.

### Defesa de Dissertação

No dia 25 de maio, a Pesquisadora Katia Cristina Kupper, do Centro de Citricultura participou como Membro Titular da Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de Daniela Vieira Cardozo França, discente regular do Programa de Pós-graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural, da UFSCar, Araras, SP, ocasião em que a mestrandia defendeu o trabalho intitulado "Pimenta Biquinho: biorespostas sob interação de isolados de *Trichoderma* spp. e substâncias em altas diluições".

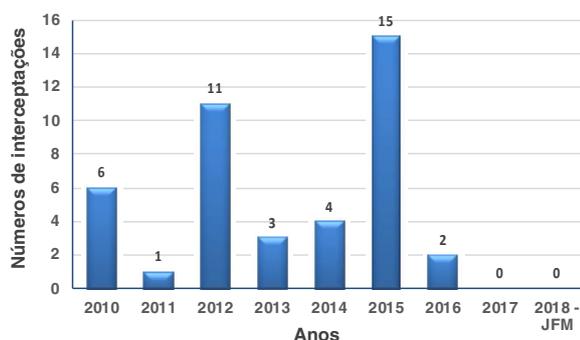
### Resultados do teste de Indução de Sintomas de MPC pela Clínica Fitopatológica do Centro de Citricultura

O fungo *Phyllosticta citricarpa*, agente causal da pinta ou mancha preta do citros (MPC) é classificado como uma praga quarentenária A1 pelos países da Comunidade Européia, sendo esse um dos motivos de entraves na exportação de frutos cítricos para aquele continente. Vários carregamentos de frutos cítricos do Brasil foram, num passado recente, rechaçados pela presença de frutos com lesões de MPC, chegando a 15 lotes em 2015.

Segundo a regulamentação brasileira, os frutos cítricos destinados a exportação necessariamente devem passar por processos controlados de indução de sintomas de MPC. Este procedimento visa minimizar os rechaços de cargas e, por consequência, evidenciar ao país comprador o controle sobre a condição sanitária dos produtos de exportação.

Desde 2016 a Clínica Fitopatológica do Centro de Citricultura tem disponibilizado ao setor citrícola o teste de indução de sintomas de MPC com posterior diagnóstico na lesão emergente do agente causal, *P. citricarpa*, por meio da PCR quantitativa em tempo real (qPCR). Este procedimento tem acreditação do Cgcre/Inmetro segundo as normas ISO/IEC 17025.

Os resultados de uma análise criteriosa podem ser constatados no número das cargas rechaçadas que foi de dois, em 2016 e nenhum rechaço em 2017, assim como nos três primeiros meses de 2018.



Números de intercepções pela Comunidade Europeia de carregamentos de frutos cítricos com *P. citricarpa* (fonte: [https://ec.europa.eu/food/plant/plant\\_health\\_biosecurity/europhyt/interceptions\\_en](https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/europhyt/interceptions_en))



### Expediente

Informativo Centro de Citricultura

### Conselho Editorial

José Dagoberto De Negri  
Marcos Antonio Machado  
Vivian Michelle dos Santos

### Colaboração

Dirceu de Mattos Jr.  
Hélcio Della Coletta Filho  
Heros José Máximo  
Katia Cristina Kupper  
Luriany Pompeo Ferraz  
Marinês Bastianel  
Ronaldo J.D. Dalio

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

[www.ccsm.br](http://www.ccsm.br)  
[informativo@ccsm.br](mailto:informativo@ccsm.br)

### Mala Direta Básica

CNPJ-61705380/0001-54 -DR/SPI  
Fundação de Apoio  
à Pesquisa Agrícola

