



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Novembro de 2019 • Número 294

Mecanismos de ação de um isolado de levedura contra patógenos de pós-colheita

O setor citrícola enfrenta vários problemas com doenças que ocorrem na pós-colheita, como o bolor verde e a podridão azeda, causados por *Penicillium digitatum* e *Geotrichum citri-aurantii*, respectivamente. O surgimento de linhagens resistentes de *P. digitatum* e a falta de produtos registrados no Brasil para o controle da podridão azeda têm incentivado a busca por métodos alternativos de controle e, dentre esses, o controle biológico, por meio do uso de leveduras com potencial para o biocontrole.

Trabalhos realizados no Laboratório de Fitopatologia e Controle Biológico (LFCB) do Centro de Citricultura pelas alunas Flávia Lino Polletini (mestrado) e Mariana Nadjara Klein (doutorado), sob a orientação da Pesquisadora Katia Cristina Kupper mostraram o potencial de um isolado da levedura *Aureobasidium pullulans* no biocontrole.

A. pullulans vem sendo estudada há anos como um agente de controle biológico em diversas culturas, principalmente com



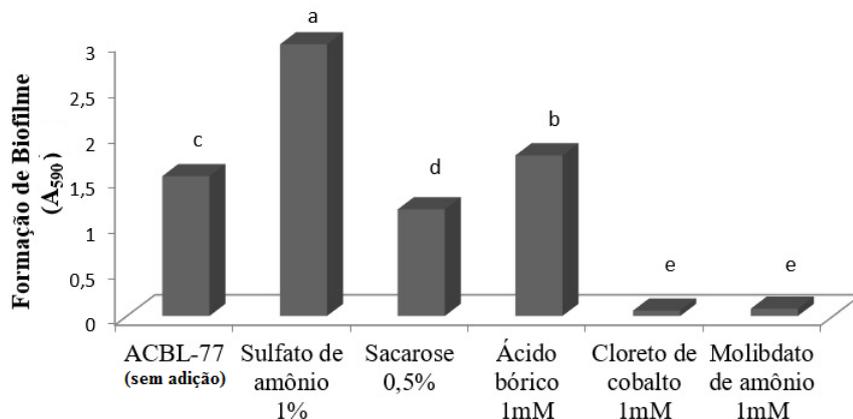
Figura 2. Frutos de laranja Pera inoculados com *Geotrichum citri-aurantii*, e tratados preventivamente com A) *Aureobasidium pullulans* cultivada em meio YMM juntamente com 1% de sulfato de amônio; B) *Aureobasidium pullulans* cultivada em meio YMM; C) testemunha (sem tratamento).

doenças que ocorrem na fase de pós-colheita. Um bioproduto Boni-Protect®, à base de duas cepas desta espécie de levedura, foi registrado na Alemanha para controle de *Monilia fructigena*, *Penicillium expansum* e *Botrytis cinerea*, em maçã. Em nossos estudos com citros, a levedura apresentou 90% de controle da podridão azeda em ensaios realizados sob condições favoráveis ao patógeno (frutos de laranja inoculados com *G. citri-aurantii* e armazenados durante 15 dias a 25°C ±2°C e 90% de umidade relativa).

Os estudos mostraram, também, que a adição de sulfato de amônio 1% no meio de cultivo YMM (1 mL da solução estoque de 1% MgSO₄·7H₂O, 2,2% CaCl₂·5H₂O, 2,2% K₂HPO₄, 0,2% FeCl₃ em 0,1 M HCl + 10 mL de 11% C₃H₈NO₄Na + 100 mL de 10% glicose, com o volume ajustado para 1 L) da levedura estimulou a produção de biofilme e, conseqüentemente, aumentou sua ação antagonista contra a podridão azeda em frutos (Figuras 1 e 2).

Verificou-se que, a aplicação da levedura, previamente cultivada em meio YMM acrescido de sulfato de amônio, favoreceu a sua sobrevivência em fermentos de frutos cítricos e provocou deformações nas hifas de *G. citri-aurantii*. O tratamento com esse antagonista não alterou a qualidade dos frutos cítricos, mas aumentou as atividades das enzimas envolvidas com a defesa dos frutos ao patógeno. Esses resultados enfatizam a importância da adição e do tipo de nutriente, quando da formulação de um bioproduto à base desta levedura, visando a sua utilização em escala comercial.

Esse é o primeiro relato de uma correlação positiva do aumento na quantificação de biofilme produzido por *A. pullulans*, em função da fonte de nutriente, com o aumento da sua atividade antagonista contra *G. citri-aurantii*.



Aureobasidium pullulans ACBL-77 + diferentes nutrientes

Figura 1. Formação de biofilme por *Aureobasidium pullulans* - ACBL-77, cultivada após 72 horas em meio YMM com diferentes nutrientes. O controle (ACBL-77) indica células da levedura cultivadas em meio sem adição de nutrientes.

Editorial

Respondendo demandas

Há tempo vivemos o cenário da “nova citricultura” ou da “citricultura moderna”, que tem avançado sobre vários aspectos da produção, defesa e comercialização da fruta e do suco. Isso tem sido demonstrado pelos aumentos da eficiência produtiva pouco comparável a outras culturas do agro brasileiro, resultante da forte profissionalização e crescente competência de todos integrantes da cadeia dos citros. Apoiada por enormes progressos na pesquisa que têm garantido a produção brasileira, em especial do cinturão citrícola de São Paulo e Sul do Triângulo Mineiro, ganhos à economia do Estado não param aí. Encarando uma postura mais global e tratando de questões importantes sobre a sustentabilidade econômica e social, a citricultura absorve esses resultados de forma bastante rápida, impulsionando os atores de ciência, tecnologia e inovação para novos ambientes de trabalho. Neste Informativo do Centro de Citricultura destacamos como nosso trabalho acontece alinhado com essa postura. Por exemplo, com vista às recentes conquistas do mercado de fruta fresca e da necessidade de um controle de podridões em pós-colheita com segurança, são apresentados resultados do uso de leveduras com potencial para o biocontrole da podridão azeda com o aumento da atividade de enzimas envolvidas com a defesa dos frutos ao patógeno. Também, respondendo a questões abertas por vários anos no setor, nossas pesquisas têm ainda demonstrado como o uso correto de métodos químico e mecânico de controle de plantas invasoras e o manejo de culturas intercalares favorece a diversidade da comunidade microbiana, caracterizando a qualidade do solo numa correlação positiva entre atributos microbiológicos e produtividade da lima ácida Tahiti. Mais uma vez, provendo subsídios ao citricultor para a gestão sustentável do seu negócio. Não obstante às pesquisas realizadas, ainda preenchemos espaços importantes com transferência do conhecimento e formação de recursos humanos. Noutro exemplo, com a realização do curso de manejo integrado de pragas dos citros, que juntou técnicos da iniciativa privada e de instituições de pesquisa e extensão, nas discussões e aulas práticas apresentadas pela nossa equipe e parceiros de outras instituições que se juntaram numa programação de alta qualidade. Disso tudo, vê-se que nossa citricultura se torna atraente para visitantes internacionais que almejam lograr sucesso paralelo àquilo que conquistamos até aqui. Esta é nossa cara, “... no centro da citricultura”!

Matéria de Capa

A realização de projetos de pesquisa financiados pela Fapesp (Proc. 2011/13006-1 e 2014/25067-3) permitiram identificar os possíveis mecanismos de ação de *A. pullulans* que estão envolvidos no biocontrole. Os resultados mostraram que, dentre os mecanismos exercidos no antagonismo, a levedura apresentou atividade killer contra células sensíveis de *Saccharomyces cerevisiae* e contra os fitopatógenos *P. digitatum* e *G. citri-aurantii* (Figura 3). Durante o processo

de purificação, em uma primeira etapa, foi possível observar que a proteína killer de *A. pullulans* apresenta baixa massa molecular, pertence à família das ubiquitininas e apresenta atividade contra os fitopatógenos (Figura 4).

Atualmente, pesquisas estão sendo realizadas e financiadas pela Fapesp (Proc. 2019/07296-9) com o intuito de se obter informações sobre a formulação da levedura. Acreditamos que essas informações poderão contribuir para a elaboração de uma nova tecnologia a ser empregada durante o processo de beneficiamento dos frutos em *packinghouse*.

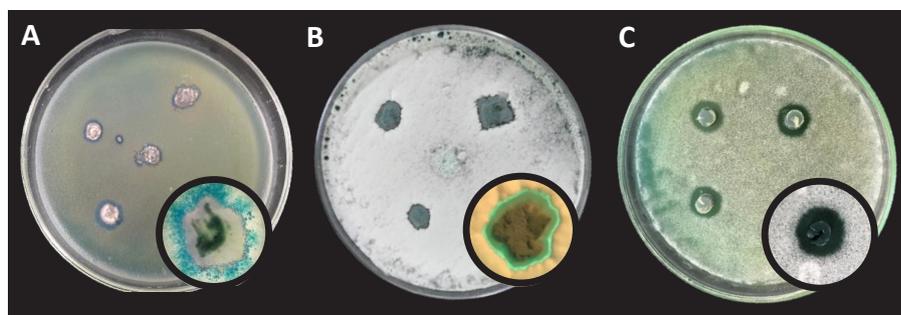


Figura 3. Atividade killer da levedura *Aureobasidium pullulans* A) contra *Saccharomyces cerevisiae* (NCYC 1006); B) contra *Penicillium digitatum*; C) contra *Geotrichum citri-aurantii*.

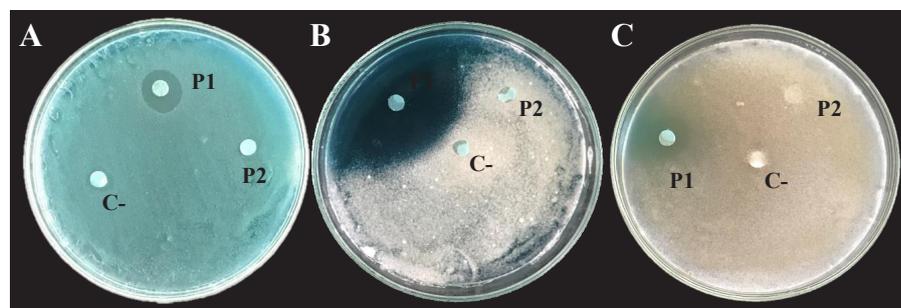


Figura 4. Purificação da toxina, em coluna de Cellulose (Medium Fibers), resultou na separação de dois picos (P1 e P2), com tamanhos de bandas em torno de 10 kDa e entre 50 e 70 kDa, respectivamente. Avaliação dos picos P1 e P2 quanto à atividade de antagonismo A) contra *S. cerevisiae* NCYC 1006; B) contra *P. digitatum*; C) contra *G. citri-aurantii*. Atividade killer é visualizada através da difusão e formação de halos de inibição. (C-) Controle negativo: H₂O Milli-Q. Apenas o pico P1 apresentou atividade killer contra os microrganismos.

A EDIÇÃO DE 2020 DA EXPOCITROS JÁ TEM DATA MARCADA.

- 1 EXPOSIÇÃO DE NEGÓCIOS
- 2 CONFERÊNCIAS TÉCNICO-CIENTÍFICAS
- 3 HOMENAGEM DIA DO CITRICULTOR

É SUA MARCA, JÁ RESERVOU ESPAÇO NO MAIOR EVENTO DA CITRICULTURA?

Conheça as opções de investimento para expor sua marca, fale com a organização. Valéria Garcia: valeria@ccsm.br

Notas

10º Workshop Citrusuco Manejo do HLB

Foi realizado no dia 7 de novembro o 10º Workshop Citrusuco - Manejo do HLB, na cidade de Matão, SP. Foram realizadas palestras e debates com rico conteúdo, englobando principalmente os assuntos relacionados ao controle de *Diaphorina citri* e desenvolvimento de variedades de porta-enxertos mais tolerantes à doença. O Centro de Citricultura participou com as apresentações intituladas Edição de genomas de citros visando à tolerância ao HLB, pela doutoranda Maiara Curtolo e Proteínas efetoras importantes para a alimentação de *Diaphorina citri* em plantas cítricas, pela Inaiara de Souza Pacheco.

Visita de Citricultores Espanhóis

O Centro de Citricultura recebeu a visita de cerca de 70 citricultores da região produtora de citros entre Valência e Sevilha, Espanha, coordenada pela Sr. Jon Acarregui, da Nufarm España S.A., em colaboração com a Nufarm Brasil. Na agenda, foram apresentados o trabalho do Centro de Citricultura, como instituição de pesquisa e inovação, além de discutidos principais resultados de pesquisa para melhoramento de copas para a produção de frutos de mesa e de frutos especiais para suco, manejo de nutrientes para a produção sustentável dos pomares, e estratégias de manejo do HLB para o controle do psilídeo e ações coordenadas entre citricultores, como novos cenários do desenvolvimento da citricultura brasileira. Participaram desse encontro e discussões, pesquisadores do Centro de Citricultura e do Fundecitrus.

Workshop FAPESP

Os pesquisadores Alessandra A. de Souza, Mariangela Cristofani Yaly, Marco A. Takita e Raquel L. Boscariol-Camargo participaram no dia 5 de novembro do workshop Biotecnologia para produção eficiente e aprimorada de culturas alimentares e bioenergia, realizado na Fapesp. O evento teve como objetivo destacar as descobertas científicas e os avanços tecnológicos em biotecnologia visando enfrentar desafios globais na produção agrícola, tais como degradação de terras agrícolas, surtos de pragas, temperatura/chuva instáveis, que podem ser acentuadas pelas mudanças climáticas projetadas. Além das nove palestras apresentadas, o workshop proporcionou um espaço para discussões sobre as aplicações biotecnológicas e possíveis colaborações internacionais. Na ocasião, o Diretor do IAC Marcos A. Machado apresentou a palestra Progresso da biotecnologia vegetal no Brasil: legislação e impacto.

Participação em eventos

No dia 6 de novembro o Pesquisador Fernando Alves de Azevedo proferiu palestra sobre Manejo racional do mato no pomar e seus benefícios na produção e conservação do solo, no Núcleo de Produção de Mudas da Coordenadoria de Desenvolvimento Rural Sustentável (CDRS) em São Bento do Sapucaí, SP, durante o XIV Seminário de Fruticultura.

Já no dia no 21 de novembro o pesquisador participou da I Semana Integrada da Agronomia e XI Simpósio Grandes Culturas: Citros, proferindo palestra com o tema Variedades copa e porta-enxertos para citros, num evento organizado Grupo PET-Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, no Paraná.

Pesquisa

Microbiologia do solo de pomar de Tahiti consorciado com braquiária

Técnicas de agricultura de conservação, como o cultivo consorciado, o menor revolvimento e a cobertura permanente do solo podem promover a qualidade do solo, incrementando a ciclagem de nutrientes e umidade, bem como sua atividade microbiana, estimulando o uso eficiente dos recursos do solo pelas plantas. Porém, no cultivo de citros essas práticas e o efeito na microbiologia do solo precisam ser mais estudados.

Nesse contexto, o Centro de Citricultura estuda o tema há dez anos, num experimento com lima ácida Tahiti enxertada sobre citrumelo Swingle, instalado em Mogi Mirim, SP, onde avaliam-se o consórcio de braquiárias decumbens e ruziziensis, como plantas de cobertura das entrelinhas do pomar, além do manejo diferenciado com roçadoras (ecológica e convencional) e aplicação ou não de herbicida sistêmico (glifosato) na linha de plantio.

Durante três safras, foram avaliados o carbono da biomassa microbiana (carbono presente no solo, advindo de microrganismos), a respiração microbiana basal (que representa a atividade dos microrganismos no solo), a diversidade da comunidade microbiana, a abundância de bactérias diazotróficas e as responsáveis pela fosfatase alcalina, além da produtividade da lima ácida Tahiti.

A utilização do manejo com braquiária ruziziensis e roçadora ecológica proporcionaram ganhos na abundância de microrganismos no solo em todas as avaliações realizadas, elevando a produtividade da lima ácida Tahiti em 30% (acima de 40 t ha⁻¹), quando comparado ao sistema convencional (braquiária decumbens + roçadora convencional). Em resumo, observou-se que a adoção da roçadora ecológica proporciona menor distúrbio às atividades microbiológicas do solo, em decorrência da deposição da biomassa na linha de plantio (*mulching*). Ressalta-se também que o uso do herbicida, nas doses corretas, não afetou a microbiota do solo.

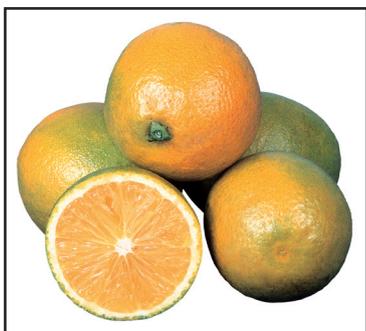
Há correlação positiva entre os atributos microbiológicos e a produtividade da lima ácida Tahiti com o uso de braquiária ruziziensis, manejada com roçadora ecológica, sendo portanto práticas sustentáveis da agricultura de conservação para citros.

Ana Carolina Costa Arantes, doutoranda
Fernando Alves de Azevedo

Cordeirópolis, Novembro de 2019 • Número 294

Citricultura Nota 10: Laranja Lima Verde

Variedade do grupo das laranjas de baixa acidez (*Citrus sinensis Osbeck*), de origem desconhecida, foi introduzida no Centro de Citricultura Sylvio Moreira sob a denominação IAC 416 Lima Verde. Suas árvores possuem porte médio com produtividade até 200 kg/planta. Os frutos são ovalados a esféricos, com peso médio de 150 g e poucas sementes (2 a 4 por fruto). Como as demais variedades desse grupo apresenta *ratio* elevado (ao redor 190), acidez média 0,05% e sólidos solúveis totais de 10 °Brix. Dependendo das condições edafo-climáticas onde é cultivada pode ser considerada de maturação tardia dentro do grupo (junho a outubro), se constituindo numa excelente variedade para consumo de fruta fresca. Em função destas características este material foi incluído no Programa Citricultura Nota 10 do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, estando registrada junto ao RNC com o nome de Lima Verde.



1º Curso de Manejo Integrado de Pragas dos Citros

Nos dias 26, 27 e 28 de novembro foi realizado no Centro de Citricultura o 1º Curso de Manejo Integrado de Pragas dos Citros (MIP Citros), que contou com 39 participantes. Essa era uma antiga demanda do setor citrícola perante os cursos já consolidados de difusão de tecnologia oferecidos pelo Centro de Citricultura, que foi atendida em 2019, com apoio da Fundag, Koppert Biological Systems, Oro Agri Brasil e UPL Brasil. Nessa primeira edição contemplou palestras dos mais renomados pesquisadores da área, bem como de jovens pesquisadores de destaque na entomologia agrícola, de diversas Instituições como: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq/USP), Fundecitrus, Grupo de Consultores em Citros (Gconci), Instituto Biológico (IB/APTA), Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM-Uberaba), Universidade Estadual Paulista (FCAV-Unesp), Universidade Federal de São Carlos (CCA/Ufscar) e do próprio Centro de Citricultura Sylvio Moreira. Um ponto bastante importante do curso, segundo os participantes, foi uma tarde totalmente dedicada a identificação prática de insetos, ácaros pragas e seus respectivos inimigos naturais. Na oportunidade, os participantes puderam ter contato, identificar e observar as diferenças entre as pragas e quais as ferramentas para identificá-las a campo, como as armadilhas adesivas amarelas (psilídeos), frascos caça-moscas e armadilhas de feromônios (bicho-furão e mosca-das-frutas). No decorrer do curso foram abordadas estratégias de manejo para as principais pragas (ácaros em geral, lagartas, cochonilhas, psilídeos, mosca-das-frutas, mosca negra, bicho-furão etc), principalmente no atual cenário da necessidade de controle intensivo do psilídeo, como parte do controle do HLB. Foi uma importante oportunidade para discutir MIP em tempos de HLB e as grandes restrições no uso de agroquímicos, contribuindo para um sistema de produção sustentável, exigida pelo mercado consumidor de frutas frescas e suco de laranja. A ideia é manter o evento nos próximos anos e que o Centro de Citricultura contribua para um fórum permanente de discussão sobre MIP e difusão de conhecimento.



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Conselho Editorial

Dirceu Mattos Jr.
José Dagoberto De Negri
Vivian Michelle dos Santos

Colaboração

Alessandra Alves de Souza
Ana Carolina Costa Arantes
Fernando Alves de Azevedo
Katia Cristina Kupper
Mariângela Cristofani Yaly
Marinês Bastianel
Rodrigo do Vale Ferreira

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

www.ccsm.br
informativo@ccsm.br

Mala Direta Básica

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

