



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Janeiro de 2014 • Número 224

Programação de Pesquisa e Desenvolvimento

Vinculado ao Instituto Agrônomo (IAC), da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, o Centro de Citricultura está envolvido em atividades de Pesquisa e Desenvolvimento, com foco no desenvolvimento de conhecimento e tecnologia para o agronegócio da citricultura. Conta com equipe multidisciplinar de pesquisadores, pequeno grupo de apoio e grande contingente de estagiários, sendo que todos participam da condução dos trabalhos e projetos em andamento. Com certificação ISO 9001:2008 e ISO 17025:2005, o Centro de Citricultura está organizado de acordo com organograma estabelecido pela legislação de sua criação.

Nessa estrutura organizacional, criada pelo Decreto nº 46.488, de 05 de janeiro de 2002, existem quatro pilares, subordinados à Diretoria, que dão sustentação à unidade: Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento, Núcleo de Informação e Transferência do Conhecimento, Núcleo de Apoio Administrativo e Laboratório de Referência, representado pela Clínica Fitopatológica.

Este Informativo apresenta a estrutura e funcionamento do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento (NPD), que congrega as atividades de registro e acompanhamento dos programas e projetos de pesquisa do Centro de Citricultura.

Estrutura

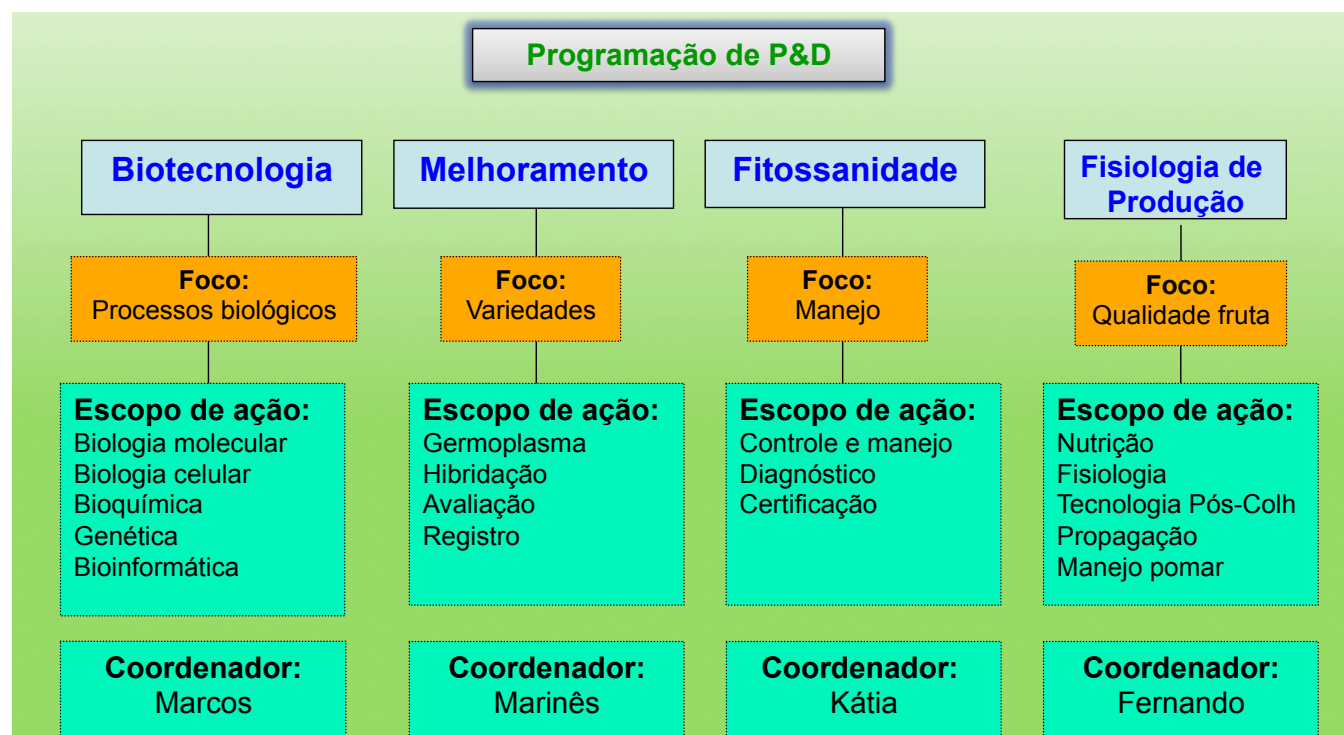
O NPD, estruturado no decreto de criação da APTA, tem por objetivo “gerar e transferir conhecimentos científicos e tecnológicos com foco nas prioridades institucionais nas áreas de conhecimento de seu campo de atuação”. Para tanto, no Centro de Citricultura adotou-se uma organização do Núcleo de forma que os trabalhos de pesquisa fossem distribuídos em quatro programas: Programa de Biotecnologia, Melhoramento, Fitossanidade e de Fisiologia de Produção. Por sua vez, esses programas estão divididos em linhas de pesquisa, conforme o quadro abaixo. Cada linha de pesquisa conta com um grupo de discussão, composto por membros da instituição e com um coordenador ou líder do grupo.

A estruturação do NPD permite o melhor controle do desenvolvimento dos

projetos de pesquisa, com acompanhamento em dois níveis. O primeiro é efetuado pelos líderes dos grupos, que são responsáveis por promover discussões sobre os projetos em execução e fomentar novos projetos que possam ser trabalhados dentro daquele grupo. Isso ocorre em pelo menos duas reuniões ao longo de um ano, que para o NPD começa em abril e termina em março do ano seguinte.

O segundo nível de controle se dá através do Diretor do NPD, que verifica o andamento dos projetos em uma plataforma virtual onde são feitas, pelo pesquisador responsável, atualizações semestrais dos dados do projeto. Assim, o Centro de Citricultura tem todas as informações necessárias para que o acompanhamento das atividades seja feito de forma efetiva, possibilitando bom desenvolvimento e andamento dos projetos.

A estrutura do NPD é hierarquizada, sendo que seu Diretor, Pesquisador Marco Aurélio Takita, responde diretamente ao Diretor do Centro de Citricultura, informa sobre as atividades relacionadas ao Núcleo e organiza e disponibiliza as informações.



Editorial

Acompanhamento e avaliação

Seguramente dois dos aspectos que mais contribuem para a baixa inserção e aproveitamento dos resultados do setor de pesquisa e desenvolvimento em todas as áreas da ciência e tecnologia são a reduzida capacidade de inovação que muitos setores possuem e a desconexão entre o gerador da pesquisa (setor de P&D) e seus usuários (empresas, produtores e indústria). Essa dicotomia pode ser medida de várias formas, e está profundamente associada ao relativo isolamento em que as instituições de P&D se encontram no Brasil. Isso é particularmente observado no setor agrícola, principalmente nos setores de produção com plantas perenes, como é o caso da fruticultura e, em particular, da citricultura. Agrave-se a isso a atitude de mantenedores de instituições que as relegam ao limbo da subsistência descompromissada, delegando à somatória de iniciativas individuais de seus quadros a missão de mantê-las, mesmo na ausência de mecanismos institucionais para tanto.

Inserido nesse contexto, o Centro de Citricultura tem procurado ao longo dos últimos anos buscar mecanismos que permitam sua sobrevivência científica e tecnológica. Ciente do baixo interesse do setor privado por pesquisa de ponta, nos últimos anos Centro focalizou suas ações na busca de recursos do setor público de C&T. Para tanto, tem sido eficiente o bastante para manter um sem número de projetos em andamento, gerando conhecimento científico e tecnológico e permitindo a manutenção da competitividade de sua equipe. No entanto, esse sistema tem forte caráter acadêmico.

Na tentativa de se manter "tecnológico" sem perder o viés "científico", o Centro de Citricultura organizou sua programação de P&D baseado no binômio "acompanhamento e avaliação". O acompanhamento ocorre na forma de estruturação das atividades em programas e linhas de pesquisa, com foco na agregação e colaboração de equipes, resguardando-se o potencial de cada pesquisador. Assim, dentro de cada programa o grupo define suas linhas de pesquisa e suas metas, representadas por indicadores científicos, tecnológicos e de formação de equipes. Já a avaliação, que é efetuada comparativamente entre programas e buscando estratégias para superar as dificuldades, aponta as necessidades de correções, que são levantadas de modo consensual.

Sem apontar deficiências individuais, mas coletivas dentro de cada programa, o sistema de acompanhamento e avaliação das atividades do Centro representa um grande passo no sentido de melhoria constante da pesquisa e desenvolvimento, missão principal do Centro de Citricultura.

Além disso, em um âmbito mais geral, acompanha as atividades dos projetos e se responsabiliza pelo planejamento de ações, juntamente com o Diretor do Centro. Abaixo do Diretor do NPD estão os quatro Coordenadores de Programa, que atualmente são os Pesquisadores Marcos Antônio Machado (Biotecnologia), Marinês Bastianel (Melhoramento), Kátia Cristina Kupper (Fitossanidade) e Fernando Alves de Azevedo (Fisiologia da Produção). Estes têm a função de fomentar discussões dentro de seu programa, visando o fortalecimento de linhas de pesquisa e buscando superar as dificuldades apresentadas, resultando em planejamento de ações a serem tomadas internamente. Isto é feito ao longo do ano, período no qual cada programa realiza seu workshop. Os líderes de grupos, por sua vez, respondem ao Coordenador do Programa e a eles passam as informações necessárias ao bom andamento dos trabalhos dos grupos de discussão.

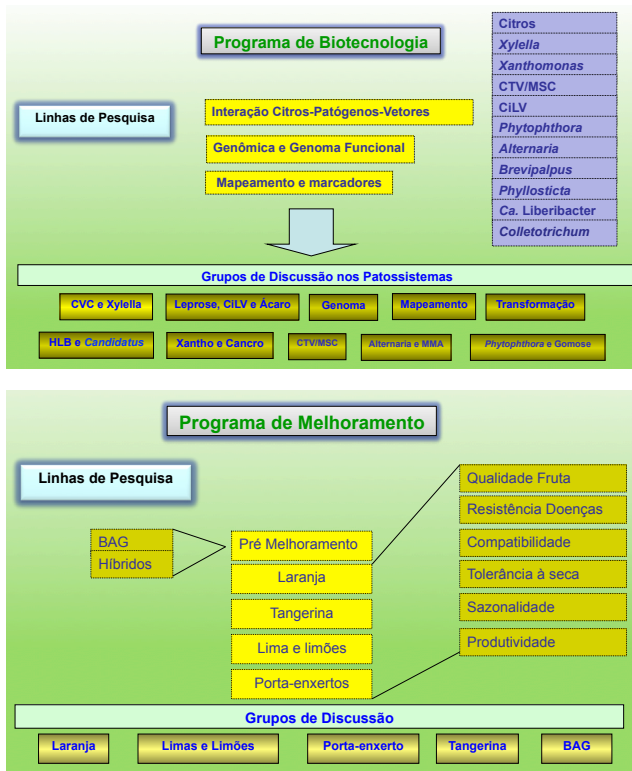
Metas

Em abril de cada ano os programas estipulam metas a serem cumpridas até o ano seguinte. As metas referem-se às atividades de pesquisa desenvolvidas pelos pesquisadores do Centro de Citricultura e englobam publicações, submissões de projetos, orientação de alunos, participação em cursos de pós-graduação, lançamento de cultivares e submissão de patentes. Com base nas metas, os Programas de Pesquisa são acompanhados ao longo do ano e avaliados ao seu final, em reunião anual organizada pelo NPD, onde são apresentados os resultados de cada programa.

Destaques em 2013

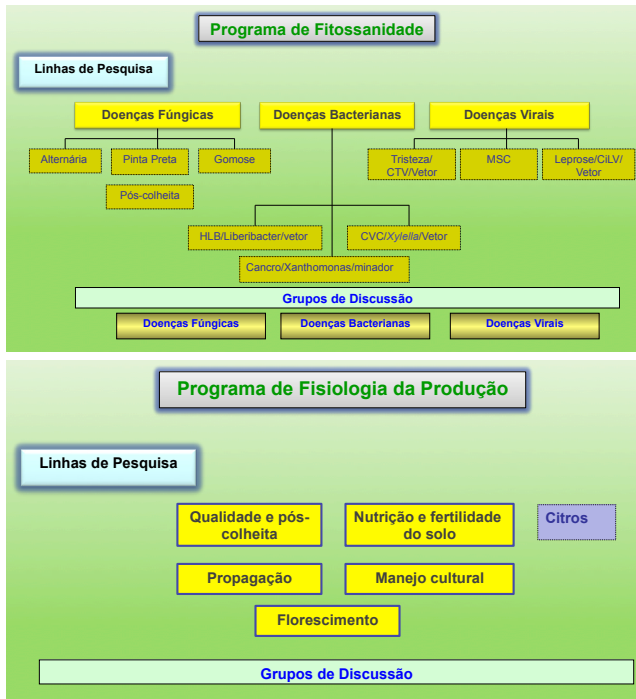
O Centro de Citricultura tem tido grande destaque em relação à aprovação de projetos em agências de fomento como Fapesp e CNPq. Grandes projetos, como o INCT (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia), coordenado pelo Pesquisador Marcos Antonio Machado, e projetos temáticos, como o de Citricultura de Mesa, coordenado pela Pesquisadora Mariângela Cristofani-

Matéria de Capa



Yaly, dão sustentação à manutenção das atividades de pesquisa e envolvem muitos pesquisadores, tanto do Centro quanto de outras instituições. Esses projetos, somados a vários projetos individuais coordenados por outros pesquisadores, tornam o Centro de Citricultura referência mundial nos estudos de citros.

Os trabalhos com sequenciamento de genomas se sobressairam nos últimos anos; eles começaram com os patógenos de citros, *Xylella fastidiosa* e *Xanthomonas citri* subsp. *citri* e culminaram com o genoma completo de citros. Os genomas contêm informações importantes, que determinam todos os processos biológicos dos organismos. Apesar de não se traduzirem em resultados práticos imediatos, os conhecimentos resultantes do sequenciamento de genomas podem levar a significativos avanços. Como exemplo, os estudos feitos a partir de dados do genoma de *Xylella fastidiosa* levaram ao depósito de uma patente que poderá resultar em um eficiente método de controle de CVC, fruto de trabalho coordenado pela Pesquisadora Alessandra Alves de Souza e realizado ao longo da última década. Isso mostra a importância de estudos básicos no desenvolvimento de novas tecnologias. O sequenciamento do genoma completo de citros, do qual o Centro de Citricultura se orgulha de ter participado, é um marco relevante na pesquisa. Essas informações irão acelerar em muito os Programas de Melhoramento existentes nas diferentes instituições, fortalecendo tanto os que usam marcadores moleculares em



Citricultura foi quatro, sendo um oral, na seção de Genoma de Citros (A Genomic View of Rangpur Lime) e três pôsteres (Citrus Breeding: Genetic Mapping and Localization of QTL for Leprosis; Comprehensive Phylogenetic Analysis of MADS-box Family in Citrus; Identification of QTL Associated with Citrus Tolerance to HLB Caused By ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’). Na seção específica sobre citros, foram apresentados ainda dados de genômica de clementina e satsuma, além de um trabalho que abordou a genômica dos citros verdadeiros

Citrus maxima, *C. reticulata* e *C. medica*. Outros dois trabalhos foram mostrados: um sobre o envolvimento de RNAs pequenos na embriogênese somática e outro sobre marcadores para sabor e cor de tangerinas. Nove trabalhos foram apresentados sobre genômica de citros na Conferência. Esta, por sinal demonstra cada vez mais que o sequenciamento de DNA tem se tornado uma importante técnica para o melhoramento genético assistido por marcadores, sendo uma fonte importantíssima para descoberta de novos e mais informativos marcadores.

técnicas clássicas, quanto os que utilizam transgenia ou cisgenia. É nada somos sem novas variedades aos produtores. O Centro de Citricultura nasceu sobre a bandeira do melhoramento e assim continua sendo. Com muitas variedades lançadas ao longo dos últimos anos, o Programa de Melhoramento destaca-se na busca de alternativas para os produtores de citros.

Por fim há que se destacar a continuidade do estabelecimento do Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG Citros IAC), em ambiente protegido. Diante do perigo da perda de toda coleção de citros existente no campo, por conta do HLB, durante anos tem sido necessário ao Centro de Citricultura um grande esforço na busca de recursos para que esse acervo seja protegido e, assim, continuar a ser fonte de material essencial para a citricultura paulista e brasileira.

Citrus maxima, *C. reticulata* e *C. medica*. Outros dois trabalhos foram mostrados: um sobre o envolvimento de RNAs pequenos na embriogênese somática e outro sobre marcadores para sabor e cor de tangerinas. Nove trabalhos foram apresentados sobre genômica de citros na Conferência. Esta, por sinal demonstra cada vez mais que o sequenciamento de DNA tem se tornado uma importante técnica para o melhoramento genético assistido por marcadores, sendo uma fonte importantíssima para descoberta de novos e mais informativos marcadores.

Participação em bancas

No dia 23, a Pesquisadora Valdenice M. Novelli participou da banca de defesa de mestrado da aluna Aline Daniele Tassi, do curso de PG em Fitopatologia – Esalq/USP, Piracicaba-SP. O tema apresentado foi a “Avaliação da diversidade morfológica de diferentes populações de espécies de *Brevipalpus* (Acari: Tenuipalpidae) transmissores de vírus e de suas competências como vetor”.

A pesquisadora Juliana Freitas-Astúa, da Embrapa e do CCSM, participou da comissão examinadora de dissertação de mestrado da bióloga Sílvia de Oliveira Dorta, intitulada “Caracterização de isolados de *Bacillus thuringiensis* patogênicos à *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)”, no dia 29 de janeiro. Participaram também da banca os Drs. Rose Gomes Monnerat Solon de Pontes, da Embrapa Cenargen, e João Roberto Spotti Lopes, da Esalq/USP. O estudo identificou toxinas Cry e Cyt responsáveis pela mortalidade de mais de 80% de ninfas de psilídeos testados, sugerindo no futuro a possibilidade do uso de Bt como mais uma ferramenta para o manejo do HLB.

Pesquisa

Abordagem molecular da mancha preta dos citros

A mancha preta dos citros (MPC), causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa*, é uma doença responsável por enormes prejuízos à produção brasileira, além de ser considerada quarentenária A1 pelos países da Europa e quarentenária A2 pelo EUA.

Apesar da importância dessa doença no cenário citrícola, pouco se sabe sobre os mecanismos de patogenicidade do fungo causador da MPC. Uma estratégia fundamental dos fungos é a liberação dos chamados efetores ou proteínas eliciadoras, os quais impedem que as plantas ativem seus mecanismos de defesa e que assim resulta na doença.

A necessidade de um maior conhecimento sobre esse patógeno, aliada ao avanço das novas tecnologias de sequenciamento e análise da expressão gênica em grande escala, resultou em trabalho desenvolvido no Centro de Citricultura, que analisou o genoma e o transcriptoma de *P. citricarpa* comparativamente à espécie endofítica *P. capitalensis*, morfológicamente muito semelhante ao patógeno, além de conviver no mesmo hospedeiro.

O genoma de *P. citricarpa* foi estimado em 32 milhões de pares de bases (Mb), enquanto que a espécie endofítica possui 33 Mb, aproximadamente. Essas informações geradas em forma de sequências de regiões codificantes de genes, ou regiões intergênicas, estão sendo exploradas para o melhor entendimento dessas duas espécies, que embora habitem a mesma planta, possuem uma relação diferente com o hospedeiro, sendo uma responsável pela doença e a outra que vive em simbiose, provavelmente proporcionando vantagens para essa planta.

O transcriptoma comparativo entre os fungos revelou que a *P. citricarpa* expressa vários genes responsáveis pela infecção no hospedeiro. Muitas enzimas degradadoras da parede celular vegetal, reguladores da transcrição de DNA, transportadores de íons e metabólitos secundários foram mais expressos na espécie patogênica. Além disso, foram identificados 354 possíveis efetores em *P. citricarpa*, que serão alvos de maiores investigações. Os resultados da pesquisa ampliam as estratégias para o controle e entendimento da mancha preta dos citros.

Carolina Munari Rodrigues,
Pós doutoranda, CNPq
Marcos A. Machado, Supervisão

Notas

Plant and Animal Genome

Os pesquisadores Marco Aurélio Takita e Mariângela Cristofani-Yaly participaram da Conferência Plant and Animal Genome, realizada entre os dias 11 e 15 de janeiro, em San Diego, Estados Unidos. Na Conferência estiveram presentes mais de 2800 pesquisadores do mundo, recorde de participantes. Dentre estes, 83 eram brasileiros, constituindo a sexta maior delegação por nacionalidade. Nossos pesquisadores apresentaram trabalhos que estão sendo desenvolvidos no Centro de Citricultura na área de genômica/melhoramento genético. O número total de trabalhos apresentados pelo Centro de

Pesquisa Aplicada

Uso de leveduras no biocontrole da podridão azeda em citros

Dentre as principais doenças que ocorrem na pós-colheita em citros, destaca-se a podridão azeda, causada pelo fungo *Geotrichum candidum*. Atualmente, não existem fungicidas registrados no Brasil que sejam eficientes para o controle. Sódio o-fenilfenol (SOPP), embora seja indicado, possui utilização limitada devido ao risco de danos aos frutos, como escurecimento da casca e oleocelose. Considerando a falta de produtos químicos registrados e eficientes, bem como a preocupação do mercado com aquisição de frutos isentos de resíduos de agrotóxicos, a utilização de microrganismos como agentes de controle biológico de doenças constitui-se numa alternativa para o controle da podridão azeda. Dentre os antagonistas mais utilizados destacam-se as leveduras, devido à capacidade em colonizar e sobreviver sobre a superfície dos frutos por um longo período de tempo. Atualmente, duas leveduras antagonistas, *Candida oleophila* e *Cryptococcus albidus*, estão disponíveis no mercado, sob os nomes comerciais Aspire (Ecogen Inc., Langhorn, PA, USA) e Yield Plus (Anchor Yeast, Cidade do Cabo, África do Sul), respectivamente.

A obtenção de um agente de biocontrole é um processo longo e que envolve várias etapas, iniciando pelo método de isolamento e seleção dos microrganismos, com potencial

para o controle, até a obtenção de isolados com características que sejam desejáveis para a formulação de um produto comercial. Apesar de se ter conhecimento sobre algumas funções das leveduras no ambiente, muito ainda há para ser descoberto sobre os mecanismos de ação envolvidos no biocontrole. Esses agentes biológicos podem atuar na prevenção da infecção, na redução da colonização de tecidos no hospedeiro, na redução da esporulação e/ou na sobrevivência do patógeno, podendo, portanto, proporcionar diferentes níveis de controle. Diante do exposto, no Laboratório de Fitopatologia e Controle Biológico do Centro de Citricultura têm sido realizados trabalhos visando principalmente isolar e selecionar leveduras de solo, folhas, flores e frutos de citros, e adicionalmente avaliar o modo de ação dos isolados que se mostrarem mais eficientes no controle de *G. candidum*.

Foram obtidos 95 isolados de leveduras de 14 municípios do estado de São Paulo, sendo o filoplano dos citros a principal fonte de obtenção destes isolados (90,5%). Dos isolados avaliados *in vivo*, quatro mostraram potencial para o controle da doença em frutos de laranja Pera. Os parâmetros avaliados mostraram que os isolados ACBL-23 (*Rhodotorula mucilaginosa*) e ACBL-77 (*Sporobolomyces koalae*) foram os mais

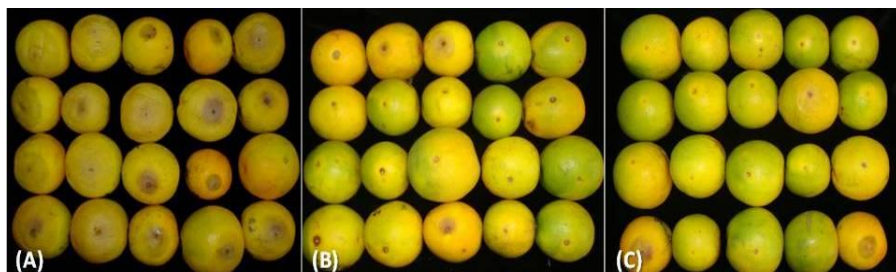
eficientes no controle da doença, quando aplicados de forma preventiva (figuras A, B e C) e curativa, enquanto que ACBL-68 e ACB-K1 (*Saccharomyces cerevisiae*) foram mais eficientes quando os frutos foram tratados curativamente. Os isolados apresentaram atividade *killer* (figuras D e E), indicando ser esse o mecanismo de ação comum adotado no biocontrole. Por outro lado, os múltiplos modos de ação apresentados pelo ACB-K1, produção de enzimas hidrolíticas (quitinase e β -1,3-glucanase), atividade *killer* e inibição da germinação de conídios do patógeno foram importantes para o controle do fungo. A partir destes resultados novas pesquisas serão realizadas com o objetivo de se conhecer a natureza da toxina *killer* em busca da produção de um bioproduto para controle da podridão azeda.

Luriany Pompeo Ferraz e

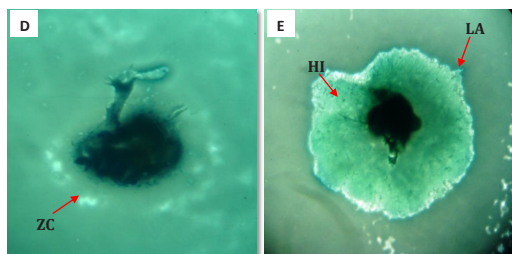
Tatiane da Cunha

Mestranda FCAV/Unesp

Katia Cristina Kupper, orientadora



Frutos de laranja Pera inoculados com *Geotrichum candidum* e tratados preventivamente com isolados de leveduras, que se mostraram mais eficientes no controle da podridão azeda. Os frutos foram armazenados a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ e 90% de UR, durante 15 dias. Controle (A), ACBL-77 (B) e ACBL-23 (C).



As setas demonstram a atividade *killer* dos isolados de levedura: ACBL-23 (figura D) mostrando a Zona Clara (ZC) (inibição da levedura sensível *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 1006) e ACBL-77 (figura E) mostrando o halo de inibição (HI) e linha azul (LA) (morte celular da levedura sensível *S. cerevisiae* NCYC 1006), cultivadas durante 72 horas em YEPD-azul de metileno, a 28°C , pH 4,5.



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Conselho Editorial

Arthur A. Ghilardi

José Dagoberto De Negri

Marcos Antonio Machado

Vivian Michelle dos Santos

Colaboração

Carolina Munari Rodrigues

Juliana Freitas-Astúa

Luriany Pompeo Ferraz

Katia Cristina Kupper

Marco Aurélio Takita

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

