

Treinamento e capacitação: o Centro promove curso

De 2 a 5 de fevereiro, o Centro de Citricultura ofereceu o curso “PCR quantitativo em tempo real: metodologias e aplicações”, que foi ministrado por Francismar Marcelino Correa, pesquisadora da Embrapa Soja (Londrina, PR), e contou com a participação de pesquisadores, pós-doutores, alunos de Pós-Graduação e estagiários de Iniciação Científica envolvidos em diferentes projetos de pesquisas desenvolvidos no Centro de Citricultura.

Somando 21 horas de aulas teóricas e práticas, o curso englobou diversos aspectos da técnica de aplicação de PCR, tais como: (i) as diferentes metodologias para quantificação de DNA baseadas em PCR (reação de polimerase em cadeia): PCR semi-quantitativo, competitivo e PCR em tempo real; (ii) as metodologias para quantificação baseadas em PCR em tempo real (*Sybr green*, *TaqMan*, *Molecular*

Beacons, *Lux Primers* e *MGB probes*); (iii) os sistema de quantificação por PCR quantitativo (quantificação relativa x quantificação absoluta); (iv) PCR quantitativo e suas aplicações; (v) escolha de genes normalizadores; (vi) softwares para análise; (vii) hardware e sistema óptico; (viii) apresentação do equipamento; (ix) descrição do sistema (calibrações e manutenção); (x) desenho de oligos; (xi) ensaios customizados; (xii) otimização para PCR quantitativo e (xiii) ensaios práticos de detecção de transgenes, cálculo da eficiência, análise da expressão diferencial

de genes em resposta a estresse e calibrações (background e ROI calibration).

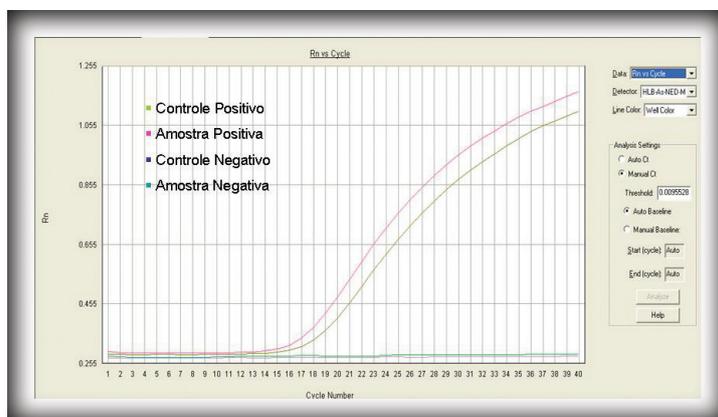
O evento possibilitou ampla integração entre os grupos de pesquisa do Centro de Citricultura. Com uma extensa experiência em PCR quantitativo desde que era aluna de doutorado na Universidade Federal de Viçosa e agora na Embrapa, onde desenvolve e coordena pesquisas na área, a pesquisadora estimulou a discussão entre os 58 participantes do curso, que serviu,

no curso, foram discutidas quantificação de carga viral, expressão gênica, detecção de transgênicos, análise de resíduos de OGMs em alimentos, detecção de patógenos, discriminação alélica (SNPs), entre outros.

“A técnica de PCR quantitativo em tempo real tem se tornado, cada vez mais, uma importante ferramenta nas diferentes pesquisas do Centro de Citricultura e, graças à sua sensibilidade e robustez, vem sendo utilizada com sucesso nos testes de diagnóstico de diferentes patógenos dos citros, principalmente, aqueles que se encontram em baixas concentrações na planta, como é o caso das espécies de *Candidatus Liberibacter*, bactérias causadoras do *huanglongbing*” explica o pesquisador Marcos A. Machado, diretor do Centro.

Segundo ele, essa técnica tem sido usada também em estudos de interações entre patógenos e diferentes

genótipos de citros e/ou seus vetores, bastante útil em vários projetos do Centro, como estudos de expressão diferencial de genes a diferentes estresses bióticos (HLB, leprose, CVC etc.) e abióticos, como estresse hídrico. “A técnica de RT-qPCR, recente em laboratórios de biologia molecular, pode auxiliar a responder muitas perguntas que ainda existem na citricultura, e esse treinamento aos pesquisadores e colaboradores do Centro de Citricultura seguramente irá contribuir para que as respostas venham mais rapidamente”, completa Marcos.



Resultado de qPCR para diagnóstico de greening em folhas com suspeita da doença. (Foto: Luciane Fender Coerini, CCSM)

além de treinamento e atualização sobre o tema, como uma oportunidade para sanar as dúvidas decorrentes dos inúmeros trabalhos desenvolvidos atualmente na Instituição.

O método determina a quantidade inicial de um produto (DNA/cDNA) através do comportamento da cinética de amplificação das diferentes fases ao longo dos ciclos de uma PCR, ou seja, detecta e quantifica, em tempo real, ácidos nucleicos enquanto são amplificados, sem a necessidade de realizar purificação e análises adicionais. Dentre as aplicações destacadas

Editorial

O impasse do momento

A palavra que tem sido mais ouvida em todas as mídias é 'crise'. Acompanhamos as variações diárias das bolsas de valores de todo o mundo, quase com o interesse de uma competição esportiva. Afinal, a economia real parece ter sido definitivamente afetada, particularmente os setores que necessitam de crédito. O cassino mundial do setor financeiro desregulamentado impõe enfim a divisão coletiva de seu jogo e de seu prejuízo. Quase que chantageados, os governos vão cedendo, porém nem sempre com reversão do quadro, uma vez que ninguém tem a mínima idéia em qual fase da crise nos encontramos. E o setor citrícola, dependente do consumo de seus produtos, não está passando ileso por este momento.

Os reflexos destes últimos meses estão e estarão se refletindo nas relações da indústria com os produtores, no mercado e, evidentemente, na situação dos produtores, que é o elo menos organizado do setor. Esses reflexos serão também sentidos na Semana da Citricultura e na Expocitros, termômetros do setor.

Apesar de todas as incertezas e do oportunismo de alguns empresários que se aproveitam da conjuntura para promover reestruturações, inclusive demissão de funcionários, a citricultura manterá seu papel de uma das mais importantes agroindústrias do País. Essa certeza é apoiada no histórico recente do setor, que passou por crises internas mais severas. Parece ter aprendido com a perenidade da planta de citros, que é capaz de cruzar estações adversas e estresses de pragas e doenças e, mesmo assim, sobreviver.

Se a atual crise é tipicamente externa à citricultura e muito dependente de medidas macroeconômicas, o setor tem que aprender a atacar suas próprias crises, como a atual expansão do huanglongbing (HLB, greening) em muitos pomares. Toda a ameaça à sobrevivência econômica da planta é uma real ameaça ao negócio da citricultura. Silencioso, de rápida difusão e alto potencial de dano, o HLB tornou-se o verdadeiro câncer da citricultura. Infelizmente não existe terapia eficiente para seu controle. A palavra chave para sobrevivência é inspeção constante e eliminação de plantas doentes. Embora paliativo, o controle do vetor deve ser praticado, principalmente para rápida redução de fontes da bactéria dentro do pomar.

O agravante de ser uma doença coletiva, talvez seja um indicativo de que, sem organização conjunta, o setor não terá nenhum atenuante para explicar o declínio da citricultura em futuro próximo.

Notas

Fapesp aprova projetos do Centro

A Fapesp aprovou mais dois projetos coordenados por pesquisadores do Centro de Citricultura. Um deles, "Estudo da interação do ácaro *Brevipalpus phoenicis* e os vírus da leprose dos citros e da mancha anular do cafeeiro", coordenado pela pesquisadora Marinês Bastianel, focalizará as interações entre esses componentes do patossistema leprose, e deverá trazer novas informações relevantes para o entendimento da transmissão do vírus da leprose pelo ácaro e para a adoção de novas práticas de manejo e controle desta doença. Outro projeto, coordenado pelo pesquisador Rodrigo Rocha Latado, é um projeto do programa de melhoramento e que desenvolverá atividades para obtenção de "Cultura de anteras e partenogênese *in situ* de cultivares de laranja doce". Seu objetivo principal é a produção de plantas haplóides e duplo-haplóides de laranja doce, algo inédito no Brasil e no mundo.

Fruit Logistica

A pesquisadora Lenice Magali do Nascimento visitou a Fruit Logistica, Feira Internacional de Hortifrutícolas, realizada entre 4 e 6 de fevereiro em Berlim, na Alemanha. A feira, com participação de representantes de aproximadamente 90 países, reúne os principais importadores, exportadores e produtores ligados ao setor hortifrutícola. O Brasil foi representado por alguns produtores com estandes de degustação, presença que não fez jus, no entanto, ao potencial da fruticultura brasileira.

Seminário científico interno

Em 26 de fevereiro, Juliana Freitas-Astúa, pesquisadora da Embrapa/Centro de Citricultura Sylvio Moreira-IAC, ministrou a palestra intitulada "Atualizações sobre HLB: destaques da Conferência Internacional na Flórida". O seminário contou com a participação de pesquisadores, estudantes de graduação e pós-graduação deste centro de pesquisa.

Visita a universidade em Ilhéus, BA

Nos dias 12 e 13 de fevereiro, a pesquisadora Raquel L. Boscariol-Camargo visitou a Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, onde ministrou palestra sobre "Biotecnologia aplicada ao melhoramento de citros" para alunos do curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. A visita fez parte da recente parceria com a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, a UESC e o Centro de Citricultura, dentro do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Genômica no Melhoramento de Citros.

Participações em bancas

Na ocasião, Raquel Boscariol-Camargo participou de uma banca de defesa de Mestrado em um trabalho envolvendo transformação genética de citros na UESC.

Em 27 de fevereiro, o pesquisador Marcos A. Machado foi membro da banca de Dissertação de Mestrado na Unicamp da aluna Paula Oblessuc, orientada da pesquisadora Luciana Benchimol do Centro de Recursos Genéticos do IAC. O trabalho de Paula teve como tema o mapeamento genético de feijoeiro para resistência à mancha angular.

Nesse mesmo dia, o pesquisador Sérgio Alves de Carvalho participou como membro da banca de Dissertação de Mestrado na Universidade Estadual de Maringá. O trabalho representa parte de projeto em colaboração com pesquisadores daquela universidade e o Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC.

A pesquisadora Kátia Cristina Kupper atuou como membro titular da banca de defesa de Tese de Doutorado da aluna Patrícia Ferreira Cunha Sousa, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal. O tema do trabalho foi seleção de genótipos para resistência a mancha preta dos citros com orientação do Prof. Antonio de Góes.

Mudança nos Dias Temáticos

Atendendo a reivindicações de vários setores, o Centro de Citricultura promoveu alterações na configuração de seus Dias Temáticos. A partir deste ano, as palestras desses eventos se concentrarão em um único período do

dia, normalmente à tarde, e não mais haverá almoço no Centro, de modo que também não mais será cobrada inscrição dos participantes. Esse novo formato deverá ser aplicado aos Dias do Limão, do Porta-enxerto, da Tangerina e da Laranja.

Participação em Congresso Paulista de Fitopatologia

De 9 a 12 de fevereiro, foi realizado o XXXII Congresso Paulista de Fitopatologia, em São Pedro (SP). O pesquisador Marco Aurélio Takita, do Centro de Citricultura, proferiu palestra intitulada “Biofilmes bacterianos e patogenicidade de *Xylella fastidiosa*”, dentro da mesa redonda “Genômica na fitopatologia”, coordenada pelo Prof. Dr. Luis Eduardo Aranha Camargo, da Esalq/USP.

Empresa produtora de feromônios visita o CCSM

O Centro de Citricultura recebeu no dia 10 de fevereiro a visita de pesquisadores da empresa japonesa Shin-Etsu Chemical Co., Ltd (<http://www.shinetsu.co.jp>), responsável pela elaboração de feromônios sintéticos para uso em agricultura. Considerados ecoprodutos, eles são recomendados para uso como estratégias de controle integrado, que utiliza os predadores naturais e usa menos pesticidas. Estiveram presentes nessa visita Dr. Takehiko Fukumoto (gerente de pesquisa), Dr. Satoshi Nojima (entomólogo), Miss Keiko Sasakura (assistente), acompanhados

por Almir José Peretto, agrônomo que trabalha para a empresa no Brasil. Eles foram atendidos pelo pesquisador Fernando Alves de Azevedo e pelo engº agrº José Dagoberto De Negri, que apresentaram as atividades do Centro e discutiram longamente sobre os problemas econômicos e fitossanitários da citricultura brasileira, inclusive bicho-furão, alvo do interesse dos visitantes, que já estão iniciando trabalhos de desenvolvimento nas nossas condições, com foco no controle da praga e não apenas no monitoramento dela.

Workshop IAC

Com o objetivo de resgatar as discussões técnicas e interações entre seus diferentes Centros, o Instituto Agrônomo promoveu, em 27 de fevereiro, o Workshop IAC, quando todos os Centros apresentaram suas atividades de Pesquisa e Desenvolvimento. O Centro de Citricultura foi representado pelo pesquisador Marcos A. Machado.

Nova comissão editorial da revista Laranja

A partir deste ano, a revista Laranja será coordenada por um grupo de pesquisadores do Centro de Citricultura sob liderança de Fernando Alves de Azevedo. O grupo se propõe a atualizar as edições da revista, assim como introduzir nova dinâmica de submissão e avaliação de manuscritos e disponibilizá-la na internet.

Pesquisa do Centro

Citros e gêneros próximos: desafio com huanglongbing

O *huanglongbing* (HLB) ou *greening* vem causando grande preocupação aos produtores de citros, devido à rápida disseminação do seu agente causal pelos pomares do Estado de São Paulo. O HLB é causado por uma bactéria chamada *Candidatus Liberibacter spp.*, que tem no Brasil, dois variantes descritos: *asiaticus* e *americanus* e é transmitida pelo vetor *Diaphorina citri*.

Até o momento, não há resistência varietal descrita, apenas variações entre níveis de tolerância entre algumas espécies de citros. A busca de resistência genética é fundamental para o definitivo controle da doença, que atualmente é feito através do controle químico do vetor, da eliminação de plantas contaminadas e uso de mudas sadias.

O Centro de Citricultura vem trabalhando intensamente no diagnóstico e emissão de laudos para a detecção precoce da doença no campo, bem como desenvolvendo pesquisas para o melhor conhecimento do seu agente causal e formas de resistência à bactéria. Entre as pesquisas em estudo estão os desafios de plantas geneticamente modificadas de *Citrus* e alguns gêneros próximos a este, visando avaliar se há resistência à doença. Os experimentos estão sendo conduzidos em estufas protegidas e avaliados mensalmente, através da técnica de PCR tradicional e qPCR (PCR quantitativo em tempo real), o qual possibilita a detecção e quantificação da bactéria no tecido da planta. Os genótipos em avaliação são: *Murraya paniculata*, *Severinia buxifolia*, *Microcitrus spp.*, *Fortunella margarita*, *Atalantia spp.*, *Poncirus trifoliata*, *Eremolemon coachella*, *Merope spp.* e *Micromellum tephrocarpa*, além de variedades de laranja doce geneticamente modificadas, contendo genes de resistência contra bactérias.

Resultados preliminares indicam que as variedades transgênicas testadas não impedem a proliferação da bactéria na planta. No entanto, em uma das construções utilizadas, as plantas não apresentaram sintomas, e neste caso, os estudos serão aprofundados. No estudo com os gêneros, constatou-se que *Atalantia* e *Eremolemon* não apresentaram a bactéria após oito meses da inoculação, sendo também assintomáticos. Novos experimentos estão sendo conduzidos para confirmar a resposta destas plantas ao HLB, e se confirmados, será a primeira forma de resistência genética descrita.

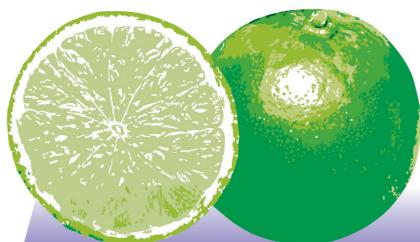
Raquel Luciana Boscariol-Camargo

Citrus e Saúde

Limas, Limões e assemelhados

Provavelmente, o limão é a fruta mais conhecida e usada no mundo. São tantas suas aplicações na vida doméstica que fica difícil enumerá-las. Tudo nele é aproveitável. Com seu suco preparam-se refrigerantes, sorvetes, molhos e aperitivos, bem como remédios, xaropes e produtos de limpeza. Da casca retira-se uma essência aromática usada em perfumaria e no preparo de licores e sabões. Enfim, muitas são as utilidades deste cítrico fácil de achar durante o ano todo, nas suas diversas variedades. Em geral, todos os tipos de limão têm aspecto semelhante, embora mudem no tamanho e na textura da casca, que pode ser lisa ou enrugada. Quanto à cor, variam do verde-escuro ao amarelo-claro, exceto uma das espécies, que se assemelha a uma mexerica. O limão é uma excelente fonte de vitamina C, muito importante para combater as infecções, pois aumenta a resistência do organismo. Contém ainda vitamina A e vitaminas do complexo B, além de sais minerais, como cálcio, fósforo e ferro. O suco de limão é um ótimo tônico e bactericida, mas não deve ser tomado puro, pois pode prejudicar o estômago devido à sua acidez.

Fonte: www.geocities.com/atine50/frutas/limao.htm



X Dia do **Limão Tahiti**

26 de março de 2009

Cordeirópolis (SP)

A comissão organizadora do X Dia do Limão Tahiti convida todos a participar do evento que neste ano condensou suas atividades no período da tarde, com entrada franca a todos interessados. Isso ocorreu atendendo sugestões do setor às necessidades do público, preservando, todavia, a qualidade e o teor das informações.

Contamos com sua presença e participação.

PROGRAMAÇÃO

- 13:30 Café e recepção
- 14:00 Limão tahiti: perspectivas econômicas
Margarete Boteon – CEPEA/ESALQ/USP
- 15:00 Produção e qualidade de frutos de Tahiti para exportação, em função de diferentes porta-enxertos
Tatiana Cantuarias-Aviles – Doutoranda ESALQ/USP
- 16:00 Impacto da presença da Mosca Negra na produção e comercialização do Tahiti
Adalton Raga – Instituto Biológico – Campinas
- 17:00 Considerações finais e encerramento
José Orlando de Figueiredo – Centro de Citricultura/IAC

INFORMAÇÕES

evento@centrodecitricultura.br
fone/fax: (19) 3546-1399
www.centrodecitricultura.br

Participe da organização da 31ª. Semana da Citricultura

Todos os anos, março e abril são os meses de montagem da programação da Semana da Citricultura. Para que o evento atenda da melhor forma as expectativas do setor, o Centro solicita sugestões, como indicação de temas para as palestras e de palestrantes. Participe você também dessa organização enviando suas sugestões para marcos@centrodecitricultura.br.



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Editora e jornalista responsável:

Cristina Rappa (MTb 15.213)

Conselho Editorial:

José Dagoberto De Negri
Marcos Antonio Machado
Vivian Michelle dos Santos Borges

Colaboração:

Juliana Freitas-Astúa
Katia Cristina Kupper
Lenice Magali do Nascimento
Marco Aurélio Takita
Marinês Bastianel
Raquel Luciana Boscarior-Camargo
Sérgio Alves de Carvalho

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

Apoio:



SECRETARIA DE
AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

