

Programa de melhoramento: busca constante por variedades em prol do sucesso da citricultura

Dentre as principais estratégias para obtenção de sucesso na atividade agrícola, destaca-se o melhoramento genético, que, além da introdução e seleção de genótipos superiores, envolve também a produção de materiais mais produtivos, adaptados às diferentes condições edafoclimáticas e resistentes às pragas e doenças. Para tanto, várias estratégias podem ser adotadas, entre elas a produção de novos híbridos via hibridação ou mesmo a transformação genética através de biotecnologia. Nesse sentido, como uma instituição geradora de produto, o Centro de Citricultura mantém um ativo programa de melhoramento que envolve várias frentes de pesquisa.

Como os outros programas do Centro, o de melhoramento está estruturado em linhas de pesquisa que focalizam melhoramento de laranjas, tangerinas, limas e limões e porta-enxertos, nos quais variedades potencialmente comerciais são avaliadas em condições de campo, buscando sempre por produtividade, resistência às doenças e qualidade de fruta. Dessas atividades origina-se um número crescente de variedades, disponibilizadas àqueles que se interessem por diversificação na citricultura. As outras linhas de pesquisa do programa envolvem as atividades de manutenção e caracterização do banco ativo de germoplasma de citros (BAG Citros) e a

produção e avaliação de novos híbridos, seja de variedades porta-enxertos seja de potenciais variedades copa.

O BAG Citros, base de todo o programa de melhoramento, é bastante diverso e dele se originou a maioria das variedades comerciais cultivadas atualmente em São Paulo. “Acessos dessa coleção prestam-se não só como potenciais variedades, mas também como fonte de variabilidade genética, principalmente para a obtenção de novos híbridos com maior tolerância às doenças e visando a qualidade de fruta”, afirma a pesquisadora Mariângela Cristofani-Yaly, coordenadora do programa de melhoramento do Centro, que conta com uma equipe de mais cinco pesquisadores com dedicação exclusiva ao tema. Além desse grupo, outros pesquisadores atuam nas interfaces com o programa de biotecnologia e de fitossanidade.

Os trabalhos de obtenção de novos híbridos já produziram mais de 1500 novas combinações para serem utilizadas como copa e porta-enxerto. “Combinações como laranja doce com tangerina e laranja doce com tangor Murcott são potenciais variedades copa sob processo de seleção para resistência às doenças e qualidade de fruta, estando em vias de liberação para o setor”, informa Mariângela. Segundo a

pesquisadora, novos híbridos de porta-enxertos como combinações entre limão Cravo e citrumelo Swingle, limão Cravo e trifoliata Rubidoux e trifoliata e tangerina Sunki, também já passaram por seleção preliminar para tolerância à gomose e no momento estão sendo avaliados para tolerância à seca e à morte súbita.

Com a incorporação de novos pesquisadores no programa, também são conduzidos trabalhos de seleção e avaliação de variedades sanguíneas de laranja, assim como de frutas sem sementes.

Os trabalhos de campo no programa de melhoramento são conduzidos com a colaboração de empresas do setor, produtores e polos regionais da APTA, através da cessão de áreas de plantio para a realização dos ensaios de campo, e o financiamento de agências de fomento.

“Os resultados das pesquisas têm direcionado o produtor quanto ao manejo das principais doenças que afetam a citricultura, a época de plantio, as variedades de mercado, assim como propiciado novas variedades que serão lançadas”, diz Mariângela. Segundo a pesquisadora, além da busca de novas opções de variedades para a citricultura, uma das metas do Programa de Melhoramento tem sido a inclusão das variedades no Sistema Nacional de Registro de Cultivares.



Ensaio de híbridos obtidos no Centro de Citricultura (Foto: Marín Bastianel)

Editorial

Esforço concentrado

Com a mudança da Instrução Normativa 10 para a IN 53 houve significativa melhoria nos procedimentos de inspeção, coleta e diagnóstico de huanglongbing (greening) no pomar. O diagnóstico passa a ser feito com base em amostra composta de um talhão, sendo o laudo emitido com base na presença da doença nessas amostras e nas bactérias existentes na propriedade.

A expectativa com a inclusão de nota de corte para eliminar todo o talhão - isto é, se mais de 28% das plantas no talhão forem positivas - é que haja concentração de esforços para eliminação de talhões altamente infestados. Como consequência desse esforço concentrado haveria significativa redução da doença no Estado, ampliando as possibilidades de controle nas áreas onde a doença ainda tem baixa incidência. Sabe-se que com baixa incidência é possível o manejo da doença, seja através da eliminação das poucas plantas doentes, seja pelo controle do vetor, ou pela associação de ambas.

Portanto, mais uma vez está patente que sem esforço concentrado fica muito difícil acreditar que o setor conseguirá sobreviver ao huanglongbing sem adotar erradicação como prática de manejo. A IN 53 ainda permite vislumbrar uma citricultura na qual o huanglongbing será excluído das áreas de produção. A experiência com o cancro cítrico permite admitir que isso é perfeitamente possível. A opção para a convivência com esta doença destrutiva, mesmo com toda a tecnologia de aplicação e eficiência de controle químico do vetor, não se sustentará no tempo. Todos conhecem seus efeitos sobre produção e qualidade da fruta.

O Centro de Citricultura mantém seu empenho de participação no processo de contenção do huanglongbing através de suas atividades de diagnóstico, em parceria com a CDA e o Fundecitrus, assim como através de eventos que alertem o citricultor para os desafios de sustentar o negócio cítrico, mesmo com uma doença tão destrutiva. A dúvida que persiste é se importantes agentes do setor estão realmente interessados nisso e se estão efetivamente contribuindo para superar esses desafios.

Centro expõe trabalhos em evento mundial sobre genoma de animais e plantas

No XVII Plant and Animal Genome Conference, realizado em San Diego, na Califórnia, EUA, ocorrido de 10 a 15 de janeiro, o Centro de Citricultura apresentou três trabalhos, sendo dois na forma de pôsteres e outro no workshop específico sobre *Citrus*. O grupo dos citros tem merecido contínuo destaque nesse evento, que já se tornou referência mundial sobre genomas. Com cerca de 2 mil inscritos, representando mais de 30 países, a conferência permite efetiva atualização no tema "Genoma e tecnologia de alto desempenho para seqüenciamento de DNA".

Os trabalhos do programa de biotecnologia do Centro de Citricultura apresentados no congresso foram:

- ESTs of roots of different citrus species and differential expression of genes associated to drought tolerance;
- Response of hybrids of sweet orange and tangor to the infection of citrus leprosis virus (CILV-C) analyzed by microarrays;
- Limonene hydroxylases in citrus.

Consórcio Internacional do Genoma Citros

O Consórcio Internacional do Genoma de Citros reuniu-se no Joint Genome Institute (JGI) do Departamento de Energia, em Walnut Creek, na Califórnia, EUA, para discutir as próximas ações para o seqüenciamento do genoma de citros. Participaram da reunião representantes do Brasil, Estados Unidos, Espanha, Itália, França e Japão.

Com a obtenção de recursos no Brasil e EUA, ficou acordado que o genoma será seqüenciado com cobertura mínima de 8X, sendo 2X sob responsabilidade do Brasil (São Paulo), 2X dos EUA (Flórida), 4X da França e 1X da China. As partes de São Paulo e da Flórida serão feitas no JGI, a da França, no Genoscope, e a da China, no Instituto de Genômica de Beijing. Cada cobertura custará aproximadamente US\$ 400 mil, usados para o seqüenciamento de alta qualidade com tecnologia Sanger.

Por que seqüenciar o genoma de citros?

Com o avanço nas técnicas de seqüenciamento nos últimos dez anos e com a significativa redução de custos, o seqüenciamento do genoma de vários organismos passou a ser uma realidade. Exemplos de expressão mundial foi o

seqüenciamento do genoma humano e, no Brasil, o seqüenciamento do genoma da *Xylella fastidiosa*, bactéria causadora da clorose variegada dos citros (CVC). "O acúmulo de dados tem revelado que os genomas são mais semelhantes entre si do que se imaginava, e também que o entendimento de seu funcionamento, para melhor conhecer o organismo, somente será possível se houver suficiente integração de informações genéticas e ambientais, o que não é diferente com os citros", explica Marcos A. Machado, pesquisador e diretor do Centro de Citricultura.

Nos últimos anos, tem havido considerável esforço de grupos de pesquisadores na busca por recursos para financiar o genoma completo de citros. Com recursos do Brasil e do exterior, através dos projetos do INCT de genômica de citros (CNPq/Fapesp), da Embrapa, da Flórida (FCPRAC) e da França (Genoscope), existem claras indicações que projeto caminhará. Entretanto, a questão que se coloca é: por que seqüenciar o genoma de citros? Pelo menos os argumentos que se seguem podem ser levantados a favor desse projeto:

1. Os citros representam uma das mais importantes fruteiras em volume de produção e giro de recursos no mundo. São consumidos em todos os países e cultivados na grande maioria deles. Movem cadeias de agronegócios que vão de pequenos produtores, de base familiar, até grandes agroindústrias de produção, processamento e exportação. Representam importante pauta do agronegócio brasileiro.

2. Todas as espécies de citros são mais ou menos suscetíveis a fatores bióticos (pragas e doenças) e abióticos (seca, acidez e alcalinidade), o que restringe a produção, o aumento de produtividade e eleva os custos de produção, reduzindo a competitividade do produtor. Doenças limitantes, como *huanglongbing*, cancro, CVC, leprose e tristeza, somente podem ser definitivamente superadas com melhoramento genético.

3. O melhoramento tradicional de citros, desde a geração de novas combinações genéticas até a produção de uma nova variedade, é um processo extremamente demorado e desafiante. Embora em andamento em vários grupos e instituições de pesquisa no mundo, como no Centro de Citricultura, há necessidade crescente de agregar ao processo novas ferramentas e informações. Além de marcadores moleculares e transgenia, o genoma representa um grande volume de informações que poderão acelerar os programas de melhoramento.

4. Dados do genoma completo serão a base para melhor entendimento das interações entre genes e o ambiente (patógenos, por exemplo) e permitirão melhor entendimento das diferenças entre espécies e mesmo variedades. Com técnicas de transformação genética, essas informações poderão ser transferidas dentro do grupo, gerando variedades mais resistentes e produtivas.

5. O genoma não trará a solução para todos os problemas dos citros, mas sem essa base de conhecimento e informações, o processo de obtenção de novas variedades, para garantir a sustentabilidade e competitividade do setor, continuará casual, demorado e dependente de sorte. Portanto, com alto grau de incertezas.

Como funcionará o Consórcio do Genoma Citros

Mesmo com novas técnicas de sequenciamento baseadas em pirosequenciamento e redução dos custos, ainda é importante estabelecer uma base de seqüências de alta qualidade (tecnologia Sanger), o que permite uma adequada montagem do genoma e confiança nos dados. Assim tem sido feito com todos os genomas até então sequenciados, sendo que a nova tecnologia adequa-se bem para projetos de sequenciamento *de novo* (resequenciamento).

Por outro lado, o grupo citros apresenta alta complexidade genética sendo um desafio a montagem de genomas, como da laranja doce ou das tangerinas. Para superar esse aspecto, o Consórcio deverá sequenciar um genoma haplóide de uma clementina, que passará a ser o genoma de referência para toda a comunidade que trabalha em pesquisa com citros no mundo. A partir desse genoma de referência, outros genomas serão sequenciados, porém com tecnologia de alto desempenho, e serão ancorados sobre o genoma de referência. Dessa forma, estão em andamento os genomas da laranja doce (Flórida), de satsuma (Japão) e de clementina (Espanha). O Brasil deverá se responsabilizar pelo genoma de limão Cravo, *Poncirus trifoliata* e tangerina Cleópatra.

“Um dos princípios de funcionamento do consórcio é o compartilhamento de dados entre seus membros. Desse modo, haverá uma base de dados em cada país, com livre acesso a todos os participantes e submissão dos dados brutos em bases públicas, quando o genoma tiver sua primeira versão”, diz Marcos Machado, explicando que o compartilhamento dos dados é comum, mas sua utilização dependerá da demanda e necessidade de cada grupo.

Flórida avança no sequenciamento de laranja

Em parceria com a Roche e a Universidade da Flórida, continuam os trabalhos de sequenciamento do genoma de laranja doce (Pineapple), como parte do esforço de re-sequenciamento com tecnologia de pirosequenciamento (alto desempenho), como previsto no Consórcio Internacional do Genoma Citros. Coordenado pelo pesquisador Fred Gmitter da IFAS, de Lake Alfred, o projeto deverá ser concluído até julho deste ano.

Notas

Visita a Universidade da Califórnia

O pesquisador Marcos A. Machado foi recebido pelos pesquisadores Richard Lee, Manjunath Keremane, Chest Roistacher e Marta Orozco na Universidade da Califórnia, em Riverside, onde teve oportunidade de visitar o banco de germoplasma em ambiente protegido, as estufas de indexação de viroses e o laboratório de transformação genética. Machado viu ainda a primeira planta de laranja Bahia levada para a Califórnia, em 1870, da qual se originaram todas as outras variedades desse grupo.

Pós-Doutorado em Berkeley

Os pesquisadores Helvécio Della Coletta Filho e Alessandra Alves de Souza do Centro de Citricultura iniciaram neste ano um treinamento em nível de Pós-Doutorado na Universidade da Califórnia, em Berkeley, EUA. Ambos trabalharão por um ano com *Xylella fastidiosa*, em continuidade aos seus projetos desenvolvidos neste Centro.

P&D no IAC

Com o objetivo de resgatar as reuniões de planejamento e discussão sobre programação científica no Instituto Agrônomo, a atual Diretoria está fomentando reuniões com os Núcleos de Pesquisa e Desenvolvimento dos Centros. Representando o Centro de Citricultura participaram desse esforço as pesquisadoras Alessandra Alves de Souza (ex-diretora do Núcleo de P&D do Centro), Mariângela Cristofani-Yaly (atual diretora desse Núcleo) e Maria Luisa P. N. Targon, como diretora substituta do Centro de Citricultura.

Pesquisa do Centro

Estresse hídrico e expressão gênica em raízes

Fatores bióticos (causados por agentes biológicos) e abióticos (condições edafoclimáticas) são os principais desafios aos trabalhos de melhoramento na citricultura.

Entre os fatores abióticos que afetam o crescimento e a produtividade dos citros está o estresse hídrico, especialmente em áreas não irrigadas, como é a maioria dos cultivos de citros no Brasil. Embora a tolerância ao estresse hídrico de porta-enxertos como o limão Cravo explique em muito a atual citricultura paulista, existem dúvidas sobre a sua permanência nos futuros plantios de citros face aos problemas associados à morte súbita. Por outro lado, porta-enxertos com boa qualificação agrônoma, como citrumelo Swingle, tangerina Sunki, tangerina Cleópatra e citrandarins, apresentam menor tolerância ao estresse hídrico.

Com o objetivo de comparar a expressão gênica de raízes de porta-enxertos em condições de estresse, foram construídas bibliotecas de genes expressos e avaliada a expressão de genes normalmente associados com a resposta de adaptação ao estresse. Os dados obtidos confirmam a participação dos genes *P5CS*, *germin-like* e *dehydrin* na resposta ao estresse, principalmente no citrumelo Swingle e em *Poncirus trifoliata*. A expressão desses genes em limão Cravo foi menor que naquelas outras espécies.

Esses resultados sugerem que sob estresse hídrico esses porta-enxertos respondem de modo diferente. Citrumelo e *Poncirus* parecem induzir a síntese de compostos osmóticos, como prolina ou outras proteínas. No entanto, essas espécies não parecem contar com os mesmos mecanismos que o limão Cravo, capaz de suportar estresse hídrico por um período de tempo maior. Desse modo, capacidade de suportar estresse mais longo e de se recuperar, associado provavelmente a anatomia do sistema radicular, parecem explicar a maior tolerância do limão Cravo à falta de água.

Marcos A. Machado



II Dia do Greening

No dia 13 de março, o Centro de Citricultura realizará mais um Dia do Greening (*huanglongbing* - HLB), evento que contou com grande participação do setor em 2008. A programação incluirá os últimos resultados da pesquisa conduzidos no Brasil e na Flórida, assim como a discussão da Instrução Normativa 53 e depoimentos de produtores que estão vencendo essa guerra. O evento é aberto a todos os interessados. Participe!

Em breve, programação no site www.centrodecitricultura.br.

Principais eventos em 2009

II Dia do Greening (<i>huanglongbing</i> - HLB)	13 de março
X Dia do Limão Tahiti	26 de março
IV Dia do Porta-Enxerto	30 de abril
XII Dia da Tangerina	07 de maio
31ª Semana da Citricultura	01 a 05 de junho
35ª Expocitros	01 a 05 de junho
16º Curso de Citricultura	07 a 17 de julho
15º Dia do Viveirista	14 de agosto
IV Dia de Campo de Tangerina, Socorro (SP)	25 de agosto
5º Curso de Doenças e seu Manejo	22 a 24 de setembro
IX Dia da Laranja	09 de Outubro
3º Curso a Distância de Citricultura	2º Semestre

Informações sobre os eventos estão disponíveis no site:
www.centrodecitricultura.br

HLB tem nova legislação

Com a entrada em vigor da Instrução Normativa 53, devem ser alterados os laudos de diagnóstico de *huanglongbing* (*greening*), que passarão a serem feitos com base em amostra composta coletada no talhão, não mais por planta, como exigia a legislação anterior. No entanto, para cada propriedade a confirmação da presença das bactérias causadoras do HLB continuará a ser feita por reação de polimerase em cadeia (PCR). A rotina operacional desse sistema continuará também com apoio da Coordenaria de Defesa Agropecuária e do Fundecitrus.



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Editora e jornalista responsável

Cristina Rappa (MTb 15.213)

Conselho Editorial

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

Colaboração

Dirceu de Mattos Junior
Mariângela Cristofani-Yaly

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



GOVERNO DO ESTADO DE
SÃO PAULO
TRABALHANDO POR VOCÊ