



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Outubro de 2014 • Número 233

Novo ambiente e cultura agrícola como hospedeiros para *Xylella fastidiosa*

A bactéria *Xylella fastidiosa* era considerada um problema para a agricultura das Américas do Norte (USA), afetando entre outras culturas a de videira, e do Sul (Brasil), onde causa sérios problemas em laranjeiras, assim como em cafeeiro e ameixeira. Recentemente esta bactéria foi reportada na região de Puglia, Sul da Itália, associada principalmente a sérios problemas patológicos em oliveiras (*Olea europaea*), cuja doença foi nomeada como “complexo do declínio rápido da oliveira” (*Olive quick decline complex* - OQDC) (Fig. 1 e 2). Além da oliveira, outras plantas também foram reportadas como hospedeiras dessa bactéria naquela região como amendoeiras, espirradeira (oleandro) e cerejeiras, entre outras. Já caracterizada ao nível de DNA a *X. fastidiosa* associada ao problema em oliveiras pertence a subespécie *pauca* (*Xylella fastidiosa* subesp. *pauca*) da

qual também fazem parte as estirpes que afetam laranjeira e cafeeiro. No entanto, embora pertençam ao mesmo subgrupo, são geneticamente e biologicamente distintas. Nas oliveiras italianas os vetores já conhecidos são as cigarrinhas da família *Cercopidea*, abundantes na região do Mediterrâneo europeu, e cuja infectividade natural na região com OQDC chegou a 95% no último verão. Por outro lado a transmissão natural de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* no Brasil é feita pelas cigarrinhas da família *Cicadellidae*, com infectividade muito inferior à registrada na Itália.

Em virtude da urgência em se discutir estratégias de contenção do avanço da doença e as consequências da introdução desta bactéria na Europa, principalmente para a região do Mediterrâneo, foi realizado entre os dias 21 e 24 de outubro um simpósio e um *workshop*, nas cidades de Gallipoli e

Locorotondo, províncias de Lecce e Bari respectivamente, na região de Puglia. Durante o simpósio internacional sobre o surto de *X. fastidiosa* na Europa afetando oliveiras (*International Symposium on the European outbreak of Xylella fastidiosa in Olive*) reuniram-se pesquisadores, produtores, agentes de defesa agrícola e representantes governamentais locais, nacional e da comunidade europeia. Os pesquisadores do Centro de Citricultura, Helvécio Della Coletta Filho e Alessandra Alves de Souza, participaram do evento a convite da comissão organizadora e durante o simpósio apresentaram as palestras “Diseases induced by *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*: ecology, epidemiology, and management” e “Some approaches aiming citrus variegated chlorosis control in Brazil”, abordando temas referentes aos métodos de manejo da CVC adotados em nossas



Figura 1. Plantas de oliveira apresentando sintomas associados à *Xylella fastidiosa*. (Foto: Helvécio Della Coletta Filho)

Editorial

Fóruns em andamento

Um dos principais entraves para maior harmonia no setor da citricultura sempre esteve relacionado ao desbalanço de organização de citricultores vis a vis a organização do setor industrial com todo seu poder de compra e negociação. Diferentes tratativas foram tentadas ao longo dos últimos 20 anos, mas as questões de custo de produção versus preço internacional do suco quase nunca permitiram o estabelecimento de uma equação equilibrada entre as partes. O conceito e a estruturação do Consecitrus evoluíram dentro desse contexto, entretanto, com pontos de discórdias entre os participantes, tendo sido necessário posicionamento do CADE para sua entrada em funcionamento. Mais que uma equação de preço para equilibrar os componentes dessa cadeia, desde a produção até a comercialização, o Consecitrus representa uma real tentativa de introduzir um fator de entendimento no setor. Sem dúvida deverá ser uma instituição que marcará época na citricultura brasileira.

Recentemente, mais um fórum de discussão foi estabelecido na Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, com a reativação da Câmara Setorial de Citrus, com ampla participação de representante de vários segmentos do setor. Sem conflitar com a Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Citricultura do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o objetivo principal desse fórum é consolidar um canal de comunicação direta com a Secretaria, que muito ainda pode fazer pela citricultura paulista. Sua agenda está sendo montada e sugestões são bem vindas.

Ademais, com o objetivo de integrar produtores com o setor de pesquisa e desenvolvimento, o Centro de Citricultura está promovendo a formação de um Fórum de Produtores para discutir a organização, programação e planejamento da instituição. A expectativa com esse fórum é ter um grupo que discuta, oriente, acompanhe e fortaleça as atividades do Centro.

Embora a citricultura continue em crise, a formação e funcionamento desses fóruns representa uma boa dose de otimismo para o futuro próximo. Velhas e novas questões poderão ser racionalmente debatidas e equacionadas, o futuro poderá ser melhor planejado e perspectivas positivas serão criadas. Uma luz no túnel no atual momento da citricultura.

Matéria de Capa

condições e estudos de novas estratégias de controle para *X. fastidiosa*, respectivamente. Seguindo-se ao simpósio foi realizado um *workshop* para nivelamento das informações sobre métodos de diagnóstico e cultivo *in vitro* de *X. fastidiosa* onde o Pesquisador Coletta-Filho apresentou a palestra “Current tools for the detection of *Xylella fastidiosa* in host plant and vectors”, focando principalmente os métodos de diagnóstico da bactéria através de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) adotado hoje na Clínica Fitopatológica do Centro de Citricultura. Dentre as demais apresentações do *workshop* sobre diagnóstico de *X. fastidiosa* a Clínica Fitopatológica foi o único laboratório sob as normas da ISO 17025:2005 cujo diferencial foi recebido com grande apreço pelos participantes.

Além das sessões de apresentações foi realizada visita ao campo para constatação do problema *in loco*. Realmente trata-se de um problema muito sério onde oliveiras centenárias estão morrendo sob a infecção de *X. fastidiosa*. Como fator complicador, a região com maior pressão do inóculo é formada por inúmeras pequenas propriedades com sistema tradicional de cultivo, onde a aplicação de inseticidas como forma de manejo tem uma forte rejeição por parte dos produtores e da própria sociedade. Durante evento pode-se constatar que o problema vem sendo observado naquela região desde 2008 e já propagou-se a 50 km ao norte de Gallipoli, onde se concentra importante região de cultivo comercial e mais tecnificado de oliveiras. Discutiu-se ainda a provável origem do problema, mas cada vez fica mais claro que é mais um exemplo de que a globalização não se restringe somente às pessoas.



Figura 2. Sintomas de *X. fastidiosa* em oliveira: A) em vários ramos em função de múltiplas infecções; B) ramo com sintomas iniciais em folhas; C) diferentes graus de sintomas, da clorose inicial ao total ressecamento do folha. (Fotos: Helvécio Della Coletta Filho)

Notas

Eventos

Os Pesquisadores Mariângela Cristofani-Yaly, Marinês Bastianel, Raquel Luciana Boscarol Camargo e Valdenice Moreira Novelli, o Pesquisador Visitante Leonardo Pires Boava e a mestrandia Maiara Curtolo participaram do 31º Encontro sobre Temas de Genética e Melhoramento e da 2ª Reunião Paulista de Melhoramento de Plantas, organizados pelo Departamento de Genética, da Esalq/USP. O evento, que aconteceu nos dias 7 e 8 de outubro, teve como tema “A Seleção Genômica Ampla (GWS)”, um novo método de seleção assistida por marcadores que visa acelerar o processo de melhoramento, maximizando os ganhos genéticos e a acurácia seletiva. Os destaques da programação foram as palestras sobre a seleção genômica em espécies florestais (Dário Grattapaglia, Embrapa) e no melhoramento de forrageiras poliploides (Rosângela Maria Simeão Resende, Embrapa), “Genotyping using Next Generation Sequencing” (Mathias Kirst, University of Florida), e um tutorial sobre métodos estatísticos para a seleção genômica usando software livre (Fabyano Fonseca, Universidade Federal de Viçosa).

A Pesquisadora Mariângela apresentou resultados e perspectivas da seleção genômica no melhoramento de citros na mesa redonda “Aplicação da seleção genômica nas principais espécies cultivadas do Estado de São Paulo”, onde também foram apresentados os temas “Seleção genômica e melhoramento genético no Instituto Agronômico de Campinas” (Carlos Colombo, IAC) e “Genômica aplicada ao melhoramento de cana-de-açúcar” (Antonio Augusto Franco Garcia, Esalq/USP). Os temas foram muito discutidos entre os mais de duzentos participantes nos dois dias do evento.

Entre os dias 19 a 25 de outubro, a Pesquisadora Lenice Magali do Nascimento Abramo participou do XI Simpósio Nacional e VIII Ibérico sobre Maturação e Pós-colheita, ocorrido na Universidade Empresa, em Valência, Espanha, e apresentou o trabalho intitulado “Eficiência do produto dioxiplus para o controle de doenças pós-colheita de laranja Pera”. No decorrer da participação no evento destacaram-se também contatos realizados com diversos pesquisadores que trabalham com pós-colheita de frutas, principalmente de citros, uma vez que a Espanha é o principal país no comércio internacional de citros de mesa. Segundo a pesquisadora, esses contatos serão utilizados em novos trabalhos de pesquisas, com vistas à melhoria da qualidade pós-colheita dos frutos de citros produzidos neste País.

Aula

Pelo décimo primeiro ano consecutivo, alunos da disciplina “Transmissão de fitopatógenos por artrópodos”, do Programa de Pós Graduação (PPG) em Entomologia da Esalq/USP, visitaram o Centro de Citricultura. A visita ocorreu em 8 de outubro, e incluiu alunos dos PPG em Entomologia, Fitopatologia e Microbiologia Agrícola, além do coordenador do curso, Prof. João Roberto Spotti Lopes. Essa disciplina trata das interações entre patógenos de plantas e seus vetores e promove interessante ponte entre entomologia/acarologia, fitopatologia e fitotecnia. No Centro, o grupo foi recebido pelos Pesquisadores Juliana Freitas-Astúa e Sérgio Alves de Carvalho, que ministraram palestras sobre “Transmissão de vírus por ácaros *Brevipalpus* sp.” e “Produção de material básico de citros livres de patógenos transmissíveis por vetores”, respectivamente.

Chilenos visitam o Centro

No dia 30 de outubro uma delegação de universitários chilenos estiveram no Centro de Citricultura para conhecer nossas pesquisas e instalações. Originados da Faculdade de Agronomia da Universidade Adventista do Chile, situada na cidade de Chillán, doze alunos que estão finalizando o curso, acompanhados de dois professores, foram recepcionados pelo Eng. Agr. José Dagoberto De Negri e pela Pesquisadora Katia Cristina Kupper que transmitiram aos visitantes informações sobre a história do Centro de Citricultura, uso de leveduras para controle de doenças pós-colheita e propagação de plantas cítricas. Foram ainda visitadas as estufas onde se encontram os materiais de propagação de citros e o sistema de produção de borbulhas através de plantas matrizes e borbulheiras, ambos em ambiente protegido.

Câmara Setorial de Citros

No dia 23 de outubro foi empossada a nova Câmara Setorial de Citrus da Secretaria da Agricultura e Abastecimento, na sede da Instituição em São Paulo, contando com a participação de todas as organizações envolvidas com a citricultura estadual, desde a pesquisa até comercialização. Como representantes do setor de Pesquisa e Desenvolvimento foram nomeados os Pesquisadores Marcos Antonio Machado (Titular) e Dirceu de Mattos Jr. (Suplente). Como presidente, foi eleito o empresário Emílio Cesar Fávero, tradicional produtor e comerciante de citros de mesa no Estado de São Paulo. Todos os representantes deverão relacionar suas demandas para o estabelecimento de uma agenda de funcionamento.

Pesquisa

Novos vírus associados à leprose dos citros

A leprose dos citros típica e prevalente é a do tipo citoplasmático, causada pelo Citrus leprosis virus C (CiLV-C) e transmitida pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*. Destacada como a principal doença viral dos citros no Brasil, seu controle tem gerado gastos anuais de até US\$ 80 milhões em pulverização contra o ácaro vetor, ainda a forma mais efetiva de manejo da doença. A importância da leprose tem aumentado tanto no Brasil, onde se encontra disseminada por todos os estados produtores, quanto no estrangeiro, uma vez que já foi relatada na maioria dos países da América do Sul e Central, além do México.

Diferentes vírus têm sido associados à doença por induzirem sintomas similares. Um deles foi encontrado em plantas de laranja doce na Colômbia e foi denominado Citrus leprosis virus C type 2 (CiLV-C2), devido à similaridade de suas partículas e estrutura genômica com o CiLV-C. Possivelmente será uma nova espécie dentro do gênero Cilevirus, do qual o CiLV-C é o membro-tipo. Outro vírus, Citrus leprosis virus nuclear type (CiLV-N), foi descrito em diferentes espécies de citros no México (toranja, limão, mexerica, lima doce e laranjas azeda e doce) e causa a doença conhecida como leprose tipo nuclear, que já havia sido descrita no Brasil há mais de 40 anos, infectando apenas poucos pomares não comerciais, porém sem confirmação molecular da presença do vírus. Diferentemente do CiLV-C, além do citoplasma, o CiLV-N se acumula também no núcleo das células infectadas, produz lesões menores e apresenta alta similaridade com o genoma de Orchid fleck virus (OFV). Isso sugere que o CiLV-N seja na realidade uma linhagem de OFV capaz de infectar plantas cítricas e o inclui como um provável membro de um outro gênero, Dichorhavirus, recentemente proposto. Além dos recentes relatos destas espécies, em 2014 foi descrita pela primeira vez a ocorrência da infecção numa mesma planta por dois vírus associados à leprose, CiLV-C2 e CiLV-N. Enquanto anteriormente os trabalhos evidenciavam baixa diversidade dos vírus associado à leprose, hoje sabe-se que a mesma doença pode ser causada por vírus de pelo menos dois gêneros distintos.

Em função dos últimos relatos, um estudo de variabilidade dos vírus associados à doença está sendo realizado no Centro de Citricultura, cujos resultados auxiliarão na obtenção de respostas relacionadas à epidemiologia da doença, como a origem de tais vírus e a relação dos mesmos com seus vetores e hospedeiros.

Pedro L. Ramos-Gonzalez, Pesquisador Visitante e Gabriella Dias Arena, doutoranda Unicamp

Pesquisa Aplicada

Estratégias para tolerância à *Xylella fastidiosa* e *Xanthomonas citri* subsp *citri*

As bactérias comunicam entre si através de sinais químicos, fazendo com que toda a população possa coordenar alterações em função de mudanças no ambiente. Esse sistema de comunicação é conhecido como *quorum sensing*. Em *Xanthomonas citri* subsp *citri* essas alterações aumentam virulência, movimentação e capacidade de degradar o tecido do hospedeiro. Nesse grupo essa comunicação é feita por moléculas conhecidas como DSF (*diffusible signal factor* ou fator de sinalização difusível) sintetizada por uma RpfF sintase. Nos estudos de genoma de *Xylella fastidiosa* comprovou-se que ela também utiliza DSF para comunicação, ativando ou reprimindo genes. A percepção de DSF por *X. fastidiosa* ativa genes de adesão e reprime genes de movimentação, tornando-a mais adesiva e reduzindo a capacidade de colonizar diferentes partes da planta. Isso implica em redução de virulência e, em consequência, atenuando os sintomas da doença.

Qual seria o comportamento bacteriano se tais sinais fossem alterados? Seria possível reduzir a virulência da bactéria mantendo-a em presença constante de DSF? Para responder essas perguntas foram transformadas geneticamente plantas de laranjas e citrange Carrizo (porta-enxerto) com o gene *rpfF*, responsável por codificar a enzima RpfF sintase, de *X. fastidiosa*. A severidade dos sintomas foi avaliada após 9 e 18 meses de infecção pela bactéria. Simultaneamente foi monitorada a população de bactérias nessas plantas e nos controles. Em plantas transformadas geneticamente, a população bacteriana nos ponteiros da planta foi 100 vezes menor do que aquela de plantas controle. A redução da população bacteriana encontrada em locais distais de plantas geneticamente modificadas sugere que a produção de moléculas de DSF pela planta dificultou a movimentação de *X. fastidiosa*, reduzindo assim sua virulência (Fig. 1). As diferenças nas populações das bactérias encontradas

refletem-se nas alterações de severidades de sintomas de CVC nessas plantas.

Quando se considera *X. citri* subsp *citri*, agente do cancro cítrico, também há redução da virulência da bactéria. Após 14 dias da inoculação por infiltração os sintomas de cancro cítrico foram mais severos nas plantas controle do que nas plantas geneticamente transformadas (Fig. 2). Essa redução de severidade sugere que moléculas de DSF também alteram a comunicação entre as células de *X. citri*. Isso se comprova pela avaliação da expressão de genes dessa bactéria isolada de plantas infectadas. Há forte repressão da expressão de genes de virulência e de movimentação. Maiores detalhes desse estudo podem ser encontrados em Molecular-Plant Microbe Interactions (<http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-03-14-0090-R>).

Os resultados de inoculação com *X. fastidiosa* e *X. citri* subsp *citri* sugerem que o DSF produzido pelas plantas geneticamente modificadas atuou como uma molécula plástica, isto é, agonista do comportamento de *X. fastidiosa*, uma vez que foi observada a redução da virulência dessa bactéria, e antagonista do comportamento de *X. citri*, causando alterações da expressão genética possivelmente responsáveis pela redução de sua virulência.

Alessandra Alves de Souza
e Raquel Caserta



Figura 1. Incidência e severidade de sintomas de CVC em plantas de Hamlin, aos 18 meses após a inoculação por *X. fastidiosa*: A) planta controle e B) planta geneticamente modificada. (Foto: Raquel Caserta)

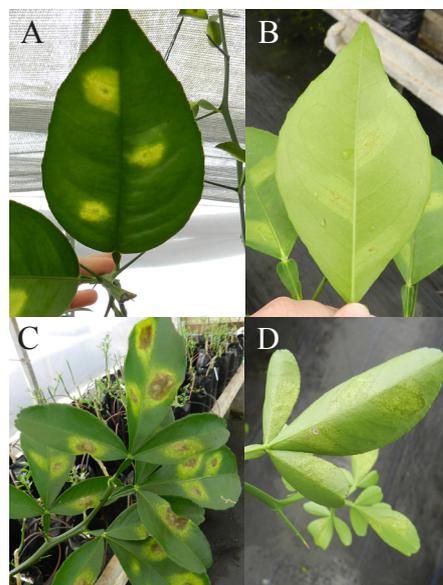


Figura 2. Severidade de sintomas de cancro cítrico em plantas de laranja Pineapple e citrange Carrizo, aos 14 dias após a inoculação por *X. citri*: A, C) plantas controle e B, D) plantas geneticamente modificadas. (Foto: Raquel Caserta)



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Conselho Editorial

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

Colaboração

Alessandra Alves de Souza
Gabriella Dias Arena
Hélcio Della Coletta Filho
Juliana Freitas-Astúa
Lenice Magali do Nascimento Abramo
Marinês Bastianel
Pedro Luis Ramos-Gonzalez
Raquel Caserta

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

www.centrodecitricultura.br
informativo@centrodecitricultura.br