



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Novembro de 2007 • Número 150

Genoma dos citros: da pesquisa básica para o futuro da citricultura

O projeto de sequenciamento do genoma expresso e comparativo dos citros está concluído, sendo que os dados estarão disponíveis ao público a partir de janeiro. O Centro de Citricultura foi um dos Institutos do Milênio que coordenaram este projeto sobre o genoma expresso e comparativo de citros, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) do Ministério de Ciência e Tecnologia. O projeto teve como objetivo principal o estabelecimento de uma base de dados de genoma de diferentes espécies e variedades de citros, sob diferentes condições de estresse. O foco principal foi a busca de genes que pudessem de alguma forma estar relacionados com a resposta da planta a doenças e estresse hídrico.

“Foi um privilégio participar deste projeto, que resultou na maior e mais importante base de dados de genoma expresso de citros, que estará disponível aos interessados fora do Centro de Citricultura a partir de janeiro de 2008”, informa o pesquisador Marcos A. Machado, diretor do Centro. Embora não seja ainda possível

precisar o número total de genes das espécies de citros, o projeto possibilitou uma ampla cobertura do genoma expresso, com mais de 32 mil genes identificados de laranja. Acrescente-se a isso os genes de tangerina, limão Cravo, *Poncirus trifoliata*, entre outros, perfazendo

um total de 92 mil potencialmente identificados. “Seguramente grande parte dos genes de respostas a doenças, pragas e estresse abióticos está na base de dados”, diz Machado.

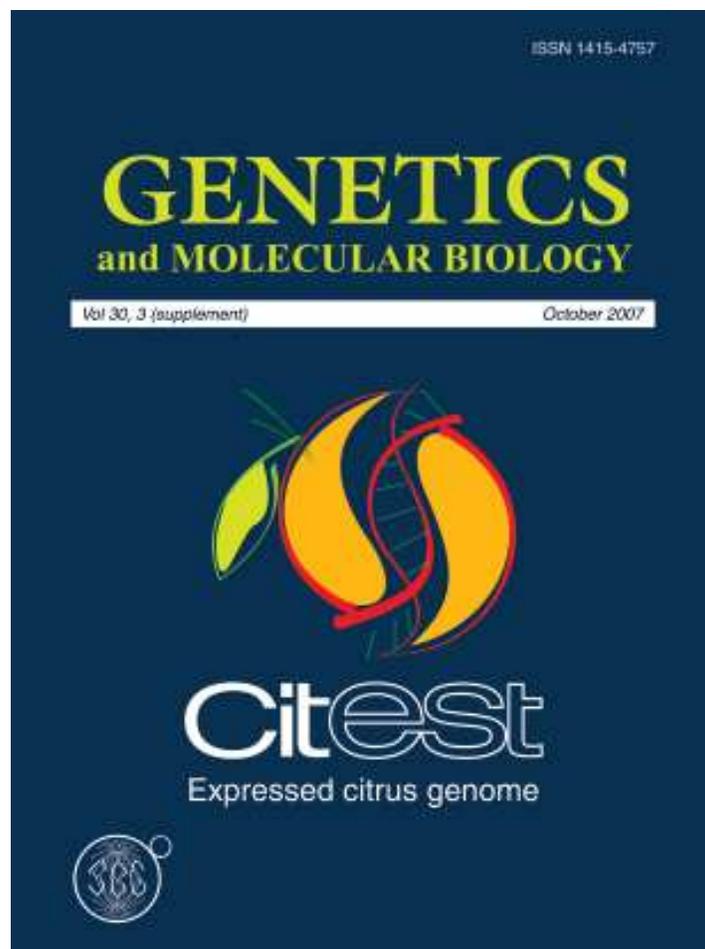
GMB que foi distribuído em novembro. Anotar dados de genoma significa, em última análise, comparar o que foi encontrado no sequenciamento com dados de outras espécies, já disponíveis nas bases

públicas mundiais. Nesse processo de anotação é possível identificar genes diferencialmente expressos ou genes exclusivos, espécie ou processos específicos. Emerge desse modo um grande volume de informações que ampliam sobremaneira nossos conhecimentos sobre processos, como por exemplo, a resposta de planta ao ataque de patógenos, ou ainda, as principais diferenças entre uma espécie resistente e tolerante a um determinado patógeno.

Em um esforço que reuniu mais de 80 pesquisadores de diversas instituições, como Unicamp, Esalq/USP, Cena/USP, Embrapa, Unesp, Universidade Federal de Lavras (UFLA) e Universidade Federal de Viçosa (UFV), além do Centro de Citricultura, foram publicados 32 trabalhos na revista científica *Genetics and Molecular Biology*. Os textos completos desses trabalhos podem ser encontrados nos seguintes

endereços eletrônicos: <http://www.gmb.org.br> e <http://www.scielo.br>. Deve ser destacado que a revista *Genetics and Molecular Biology* é a mais importante revista dessa área no Brasil e está indexada em várias bases.

(*Continua na página 2*)



Publicações

Os principais trabalhos sobre anotação dessa extensa base de dados foram publicados pela Sociedade Brasileira de Genética, no fascículo especial de sua revista

Editorial

Bases para o futuro

Desde o projeto genoma da *Xylella fastidiosa*, consolidou-se na citricultura a certeza de que a busca por conhecimento básico é a mais segura opção para consolidar a inovação tecnológica do futuro. No entanto, existe ainda um grande hiato entre o desenvolvimento do conhecimento e sua aplicação, fazendo com que muitas vezes setores de menor visão afirmem que 'a pesquisa deve resolver problemas imediatos'. Tal postura ignora propositalmente que problemas atuais são conseqüências de ações passadas e que todo longo prazo inicia-se agora.

A partir da consolidação das várias linhas de pesquisa do Centro de Citricultura, com amplo caráter multidisciplinar, está cada vez mais claro que o conhecimento básico integra-se perfeitamente ao conhecimento aplicado, e assim tem sido conduzida a programação de pesquisa da unidade. Nesse escopo, insere-se a atuação do Centro com o projeto de genoma expresso de citros, concluída sua fase principal de anotação com a publicação do fascículo especial da revista *Genetics and Molecular Biology*.

Não bastaria somente o apoio do CNPq e da Fundag na condução desse projeto, não fosse o entusiasmo do grupo de pesquisadores de várias instituições nos trabalhos de anotação. Houve efetivo envolvimento de mais de 80 pesquisadores, os quais estão convencidos que o caminho da pesquisa básica até sua aplicação é o mais seguro e robusto para consolidar tecnologias. O imediatismo de alguns segmentos ditos de pesquisa somente é suportado a médio e longo prazo com ações de marketing, cujo esquecimento é patente.

A etapa atual do projeto pode ser considerada sua partida, a partir da qual os ganhos serão obtidos ao longo de gerações de plantas de citros. O importante é manter o ritmo da capacidade de aproveitar essas informações. Infelizmente muitos segmentos são imediatistas e não têm a visão de futuro para o entendimento e apoio a atividades dessa natureza. O setor público representado pelas agências de fomento e a própria Secretaria de Agricultura têm sido os principais apoiadores dessa iniciativa. Paradoxalmente, o grande beneficiário desse trabalho será exatamente aquele que menos o apóia. Talvez porque ainda traga consigo a certeza do lucro no atual modelo de citricultura e considere a pesquisa como atividade de responsabilidade exclusiva do setor público.

Felizmente ou infelizmente, os desafios tecnológicos da citricultura paulista deverão levar a mudanças profundas no comportamento do setor. Talvez haja nesse momento, não só o reconhecimento, como a necessidade da pesquisa básica. Talvez ainda haja tempo. Marcos Antonio Machado

Matéria de Capa

Genoma dos citros

Para o desenvolvimento desse trabalho, além do próprio sequenciamento, foi necessário o desenvolvimento de ferramentas de bioinformática que ampliam sobremaneira a capacidade de análise de dados dessa natureza. Todas essas ferramentas e as interfaces *web* a que estão vinculadas serão tornadas públicas a partir de janeiro do próximo ano (<http://biotecnologia.centrodecitricultura.br/>). Também nessa data esse trabalho será apresentado no Congresso Internacional de Genomas de Plantas e Animal em San Diego, Estados Unidos.

De modo geral, os grupos participantes foram livres na escolha dos temas que foram incluídos em categorias como *Processos Bioquímicos* (7), *Processos de Desenvolvimento* (7), *Resposta a Estresses* (12), *Patógenos de Citros* (1), *Genoma Estrutural* (2), *Aspectos Gerais e Metodológicos* (3). Nesse sentido, foram avaliados genes responsáveis pela resposta de suscetibilidade da laranja à *Xylella fastidiosa*, ao vírus da leprose, assim como genes responsáveis pela resposta de resistência de tangerinas. Aspectos relacionados à tolerância de limão Cravo à seca foram também pesquisados.

Em processos bioquímicos básicos foi anotado um grande volume de genes responsáveis pelo desenvolvimento de pigmentos, flavanóides, açúcares, ácidos orgânicos, assim como vias metabólicas de síntese de reguladores e desenvolvimento floral. Ainda no âmbito de anotação, milhares de microssatélites foram identificados em genes, ampliando sobremaneira as possibilidades de saturação dos atuais mapas genéticos disponíveis no programa de melhoramento do Centro de Citricultura.

O corpo editorial foi composto pelos pesquisadores Marcos A. Machado (editor convidado) e pelos editores associados Alessandra Alves de Souza, Marco Aurélio Takita e Raquel Boscariol-Camargo (também pesquisadores do Centro de Citricultura), Ivan de Godoy Maia (da Unesp/Botucatu) e Reinaldo Montrazi Barata (da Esalq).

“O Centro de Citricultura deixa registrado seu agradecimento a toda equipe que participou dessa empreitada. Especial agradecimento merecem o Comitê Editorial da *Genetics and Molecular Biology*, e os professores Angela M. Vianna-Morgante, Klaus Hartfelder e Vânia M. de Paula, que deram apoio irrestrito à idéia desse fascículo especial e participaram ativamente de sua conclusão”, conclui.

Notas

Comissão espanhola e MAPA visitam o Centro

Acompanhados do Superintendente do Ministério da Agricultura em São Paulo, Francisco Sérgio Ferreira Jardim, e do Coordenador Geral de Proteção de Plantas, José Geraldo Baldini Vieira, técnicos do Ministério da Agricultura da Espanha visitaram o Centro de Citricultura, no dia 21 de novembro. O objetivo da visita foi conhecer as estruturas do Centro em apoio ao diagnóstico de mancha preta dos citros, doença quarentenária naquele país.

Seminário sobre Inovação Tecnológica no IAC

Vários pesquisadores do Centro de Citricultura participaram do Seminário sobre Inovação Tecnológica no Agronegócio promovido pelo Instituto Agronômico no dia 12 de novembro. Foram apresentados os aspectos relativos a propriedade intelectual e lei de inovação tecnológica, tendo sido discutidas as oportunidades que a instituição tem nessa área.

Visita de pesquisadores argentinos

Como parte das atividades financiadas pelo CNPq para projetos de cooperação bi-lateral internacional, sob coordenação do pesquisador Alexandre Moraes do Amaral (Embrapa-Centro de Citricultura) o Centro recebe a visita dos pesquisadores Adrián Vojnov e Atílio Castagnaro, do CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), órgão semelhante ao CNPq na Argentina, com o objetivo de estabelecer parcerias de pesquisa. O projeto prevê que os pesquisadores permaneçam neste centro por cerca de 30 dias. O objetivo é dar continuidade a trabalhos de genômica funcional da bactéria causadora do cancro cítrico e formar novas linhas de colaboração em áreas de interesse mútuo entre as organizações.

Dentro do programa, em 28 de novembro o pesquisador Atílio Castagnaro apresentou o seminário “Aproximaciones biotecnológicas para lograr un manejo sustentable de la cancrrosis de los cítricos”.

Auditoria do MAPA na Clínica Fitopatológica

De 26 a 28 de novembro, técnicos do MAPA procederam a auditoria na Clínica Fitopatológica com vistas a obtenção do credenciamento na norma ISO 17025. Foram auditados vários procedimentos, documentação e instalações da Clínica. O parecer dos técnicos foi favorável ao credenciamento, sendo necessário o encaminhamento de alguns documentos para que todo o procedimento seja credenciado. A expectativa é que o credenciamento seja publicado no Diário Oficial da União no início de 2008.

Reunião com o Gconci

Em continuidade aos trabalhos em parceria com o Grupo de Consultores em Citros (Gconci), pesquisadores do Centro de Citricultura reuniram-se com os membros do grupo em Limeira, em 23 de novembro. No encontro, foi apresentada a estrutura de programação do Centro, o programa de obtenção e avaliação de novos híbridos de citros, as oportunidades do programa Laranja Nota 10, além do levantamento de demandas feito pelo grupo do Gconci. Oportunidades de trabalho conjunto foram ainda identificadas e fomentadas.

Seminário no aniversário do IEA

Em 7 de novembro, comemorando seus 65 anos, o Instituto de Economia Agrícola (IEA), da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento, realizou o seminário "Agronegócios: desenvolvimento, meio ambiente e perspectivas". As palestras foram proferidas pelos ex-ministros Luís Carlos Bresser Pereira e Roberto Rodrigues, pelo Secretário do Meio Ambiente, Xico Graziano, pelo ex-Secretário Gilberto Dupas e pelos pesquisadores e professores Fernando Bento Homem de Melo e Décio Zylbersztajn.

Cerca de 240 pessoas participaram do seminário, entre eles lideranças, técnicos e integrantes do agronegócio brasileiro, inclusive com grande participação de representantes do setor citrícola. O Secretário da Agricultura e Abastecimento João Sampaio abriu o evento, que contou também com as participações de ex-Secretários da pasta, do coordenador da APTA João Paulo Feijão Teixeira e de diretores dos Institutos de Pesquisa.

Participação no Simpósio de Doenças de Plantas

Os pesquisadores do Centro de Citricultura Sérgio Alves de Carvalho e Juliana de Freitas-Astúa participaram como palestrantes convidados do VII Simpósio de Controle de Doenças de Plantas - Manejo Integrado de Doenças de Fruteiras, promovido pela Universidade Federal de Lavras (UFLA) entre os dias 20 e 22 de novembro. Ministraram palestras sobre "Obtenção de clones de citros livres de patógenos" e "Diagnose e controle das principais viroses dos citros", respectivamente, a um público composto por técnicos, professores, pesquisadores e estudantes de graduação e pós-graduação.

Empresa alemã no Centro

Os empresários Christian Miritz e esposa, proprietários da empresa Miritz Citrus Ingredients GmbH, da Alemanha e Oscar Hunold Lara, diretor da Citrus Ingredients do Brasil Comercial de Óleos Essenciais Ltda., visitaram o Centro de Citricultura no dia 21 de novembro. Na oportunidade, conheceram o potencial do Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG) para a produção de óleos essenciais diferenciados. Em discussão a possibilidade de um projeto conjunto.

Agrodefesa visita o Centro de Citricultura

Para promover uma cooperação técnica com o sistema de defesa agropecuária do Estado de Goiás - Agrodefesa, o PqC Fernando Alves de Azevedo e o Engº Agrº José Dagoberto De Negri receberam duas comitivas de cerca de 12 pessoas cada, nos dias 07 e 28 de novembro, com o objetivo de conhecer o CCSM, suas pesquisas, seu sistema de produção de material básico para propagação dos citros, seus laboratórios, além de se capacitar no reconhecimento e controle das principais doenças e pragas limitantes da citricultura. Foram proferidas palestras sobre clorose variegada dos citros, huanglongbing, morte súbita dos citros e sobre as principais pragas que afetam nossos laranjais. Com muito entusiasmo e perguntas, os profissionais da Agrodefesa discutiram todos os assuntos e levaram o que de melhor poderíamos oferecer-lhes.

Pesquisa do Centro

Endossimbiontes e a interação com o ácaro da leprose

A leprose envolve não apenas a planta hospedeira e o vírus (CiLV), mas também o ácaro vetor *Brevipalpus phoenicis*. Um outro fator nesta interação é a presença de bactérias no interior do ácaro (endossimbiontes) denominadas *Cardinium*. Sabendo-se que, para outros patossistemas, a interação simbiote-hospedeiro é essencial no mecanismo de aquisição e transmissão de fitovírus, o CCSM-IAC, com apoio da FAPESP e do USDA-ARS, está desenvolvendo trabalhos inéditos na investigação deste tipo de interação. Foram estudadas também a prevalência e a variabilidade deste endossimbionte em ácaros de diversas regiões do Brasil.

Estudos moleculares, de seqüências gene-específicas, demonstraram que o endossimbionte ocorre em quase todas as populações estudadas e em todas as fases de desenvolvimento do ácaro. A variabilidade genética entre esses endossimbiontes é baixa, não tendo sido encontrada relação entre variabilidade, planta hospedeira do ácaro e região geográfica.

Esta bactéria é responsável pelo processo de feminilização desses ácaros, sendo que no campo são encontradas praticamente apenas fêmeas; ou seja, os machos, quando raramente presentes, são livres do simbiote. O tratamento dos ácaros por antibióticos eliminou o endossimbionte, resultando em um número elevado de ácaros machos que foram avaliados quanto a capacidade de transmitir o CiLV.

Foi comprovado que não há diferença na aquisição do CiLV entre machos e fêmeas do ácaro, pois ambos, após permanecerem 72 h em inóculo e serem submetidos a testes moleculares, foram positivos para a presença do CiLV. Plantas de laranja doce, infestadas com ácaros machos virulíferos, manifestaram sintomas de leprose após 20 dias da inoculação. Estes resultados demonstraram que o ácaro da leprose não depende de seu endossimbionte para transmitir o CiLV. Entretanto, em continuidade a esta inédita linha de pesquisa, estão sob investigação populações do ácaro naturalmente livres do simbiote.

Valdenice Moreira Novelli

Índice do Fascículo Especial da Genetics and Molecular Biology

- Expressed citrus genome: integration is the challenge.
- *In silico* analysis of phytohormone metabolism and communication pathways in citrus transcriptome.
- Signaling pathways in a Citrus EST database.
- *In silico* prediction of gene expression patterns in *Citrus flavedo*.
- Towards the identification of flower-specific genes in *Citrus* spp.
- A genetic framework for flowering-time pathways in *Citrus* spp.
- Identification of photoperception and light signal transduction pathways in citrus.
- *In silico* analysis of the endogenous time-keeping mechanism in citrus.
- Nitrogen assimilation in *Citrus* based on CitEST data mining.
- An *in silico* analysis of the key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Citrus sinensis*.
- A genomic approach to characterization of the Citrus terpene synthase gene family.
- Terpene production in the peel of sweet orange fruits.
- Citrus plastid-related gene profiling based on expressed sequence tag analyses.
- Identification of citrus expressed sequence tags (ESTs) encoding pleiotropic drug resistance (PDR)-like proteins.
- Identification of protein kinase SNF1 in CitEST.
- Expression profile of oxidative and antioxidative stress enzymes based on ESTs approach of citrus.
- Identification and *in silico* analysis of the Citrus HSP70 molecular chaperone gene family.
- Identifying water stress-response mechanisms in citrus by *in silico* transcriptome analysis
- *In silico* analysis of ESTs from roots of Rangpur lime (*Citrus limonia* Osbeck) under water stress.
- PR gene families of citrus: Their organ specific-biotic and abiotic inducible expression profiles based on ESTs approach.
- Putative resistance genes in the CitEST database.
- Genes associated with hypersensitive response (HR) in the citrus EST database (CitEST).
- Analysis of expressed sequence tags from *Citrus sinensis* L. Osbeck infected with *Xylella fastidiosa*.
- Comparative analysis of differentially expressed sequence tags of sweet orange and mandarin infected with *Xylella fastidiosa*.
- Differential expression of genes identified from Poncirus trifoliata tissue inoculated with CTV through EST analysis and *in silico* hybridization.
- Differentially expressed stress-related genes in the compatible citrus-Citrus leprosis virus interaction.
- Genetic machinery for RNA silencing and defense against viruses in *Citrus*.
- *Phytophthora parasitica* transcriptome, a new concept in the understanding of the citrus gummosis.
- Frequency and distribution of microsatellites from ESTs of citrus.
- CitEST libraries
- Bioinformatics for the Citrus EST Project (CitEST).
- Gene projects: A genome Web tool for ongoing mining and annotation applied to CitEST.

Eventos do Centro de Citricultura em 2008

9º Dia do Limão	27 de março
3º Dia do Porta-Enxerto	24 de abril
11º Dia da Tangerina	8 de maio
30ª Semana da Citricultura	2 a 6 de junho
8º Dia de Campo de Tangerina de Capão Bonito	12 de junho
15º Curso de Citricultura	7 a 18 de julho
14º Dia do Viveirista	8 de agosto
8º Dia da Laranja	10 de outubro
4º Curso de Doenças de Citros e seu Manejo	23 a 25 de setembro

Maiores detalhes em www.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

Alexandre Morais do Amaral

Arthur Antonio Ghilardi

Juliana Freitas-Astúia

Sérgio Alves de Carvalho

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

Apoio



SECRETARIA DE
AGRICULTURA E ABASTECIMENTO



GOVERNO DO ESTADO DE
SÃO PAULO
TRABALHANDO POR VOCÊ