



Informativo Centro de Citricultura

Cordeirópolis, Novembro de 2017 • Número 270

Pesquisa do Centro de Citricultura: destaque em revista internacional

A Clorose Variegada dos Citros é uma velha conhecida de produtores brasileiros. Foco da pesquisa do Centro de Citricultura desde os anos 90, ganhou especial evidência principalmente após o sequenciamento do genoma da bactéria *Xylella fastidiosa*, agente causal da doença. A partir daí, derivaram diversos trabalhos que colocaram o Centro de Citricultura como um dos principais do mundo na área. Após o destaque dos trabalhos que geraram conhecimento científico além da tecnologia do uso do NAC (N-acetil cisteína) na agricultura, outra novidade surge já em grande evidência: a possibilidade de controle da doença por plantas geneticamente modificadas e desenvolvidas no Centro de Citricultura que alteram o comportamento da bactéria.

Trabalho de autoria de Raquel Caserta, Reinaldo Rodrigues Souza Neto, Marco Aurélio Takita, Steven Edward Lindow e Alessandra Alves de Souza, foi publicado neste mês na revista Molecular Plant-Microbe Interactions (MPMI) e mostra que é possível confundir a bactéria através da alteração do seu sistema de comunicação. Esse sistema, chamado de *Quorum Sensing*, é baseado na produção e percepção de moléculas das próprias bactérias. Quando ocorre um aumento na população bacteriana, essas moléculas são percebidas entre elas, o que desencadeia a expressão de genes específicos. Em *X. fastidiosa* essa molécula, chamada de DSF (Difusible Signal Factor), é produzida por uma enzima que vem do gene *rpff*. Esse gene foi escolhido pelo nosso grupo de pesquisa para ser introduzido no genoma de laranjeiras por técnicas laboratoriais, visando a obtenção de plantas transgênicas mais resistentes a essa bactéria. A estratégia é desenvolver

plantas transgênicas que produzam grandes quantidades de DSF para alterar o sistema de comunicação da bactéria.

E por que esse tipo de estratégia é interessante? Em *X. fastidiosa* o DSF é uma molécula que diminui a virulência da bactéria, ou seja, em sua presença a capacidade da bactéria causar a doença é reduzida. Ocorre que essa molécula reprime genes que aumentam a adesão entre células e favorecem sua agregação. A hipótese é que em plantas transgênicas, quanto mais bactérias nessa condição agregada, menor seria sua movimentação pela planta, o que preveniria o bloqueio de muitos vasos do xilema e, consequentemente, a severidade da doença diminuiria.

já que *X. fastidiosa* também infecta tabaco e é possível avaliar a resposta em poucos meses. Plantas transgênicas de tabaco, contendo o gene *rpff* de *X. fastidiosa*, foram obtidas para avaliar o comportamento da bactéria e o desenvolvimento da doença. Em tabaco transgênico a severidade dos sintomas causados pela bactéria é menor do que em plantas que não contenham o gene. Foi verificado também que a movimentação da bactéria é menor em plantas transgênicas. Essa avaliação demonstrou que o comportamento da bactéria em plantas transgênicas havia sido alterado, possivelmente em resposta ao DSF produzido.

Uma vez que os resultados em plantas modelo se mostraram promissores, plantas de citros contendo o gene *rpff* também foram obtidas. Em variedades de Hamlin e Pineapple contendo o *rpff* os sintomas de CVC nas folhas foram menos severos do que os sintomas de folhas de plantas não transgênicas. A progressão da doença em plantas transgênicas de Hamlin e de Pineapple foi, respectivamente, 28 e 31% menor do que nas plantas que não continham o gene *rpff*. A redução da severidade e da progressão da doença foi provavelmente em consequência da reduzida movimentação da bactéria pela planta. Assim como em tabaco transgênico, a população bacteriana em pontos próximos aos ponteiros de plantas de citros transgênicas foi menor, sugerindo que a bactéria não se espalha eficientemente

pela planta. A avaliação da expressão de genes que respondem ao DSF, em bactérias isoladas de plantas transgênicas, demonstrou que genes relacionados a movimentação estavam desligados e genes relacionados com adesão e aumento da

Volume 30, Number 11
November 2017

MPMI Molecular Plant-Microbe Interactions®



Embora a ideia de usar o gene *rpff* em plantas fosse pautada em um sólido embasamento científico, era necessário testar se na interação entre a bactéria e a planta a teoria iria funcionar. Assim, a estratégia foi inicialmente testada em tabaco,

Editorial

Ajustes necessários

A Clínica Fitopatológica do Centro de Citricultura é um dos poucos laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura e acreditados pelo Inmetro para a emissão de laudos fitopatológicos de patógenos de citros. Ao longo dos últimos dez anos a Clínica se credenciou, tanto pelo Ministério quanto pelo Inmetro, como laboratório de referência para emissão de laudos, servindo a todos os setores da citricultura, especialmente para produtores, viveiristas e exportadores de frutas. Para alcançar esse status foram desenvolvidos novos protocolos, todos baseados em procedimentos e reagentes validados amplamente, garantindo rastreabilidade e qualidade dos resultados. O modo mais seguro de garantir tais resultados baseia-se nos critérios da norma ISO 17025, acreditada pelo Inmetro. Essa acreditação é essencial para credibilidade e aceitação nacional e internacional de laudos emitidos.

Como pode ser deduzido, a estruturação dessa acreditação e credenciamento demandam esforço adicional de todos os envolvidos, além de exigir a garantia de recursos para que os processos não sofram solução de continuidade. Sem dúvida alguma, o treinamento e o envolvimento da equipe são etapas decisivas para o sucesso do empreendimento.

Desde seu início de funcionamento a Clínica tem praticado valores para emissão de laudos, mantendo-os inalterados, em que pese as mudanças nos procedimentos, especialmente quanto ao padrão e valores de reagentes, quase todos importados, para os ensaios validados. Nessas circunstâncias foi possível alcançar o padrão de qualidade reconhecido atualmente. No entanto, ajustes tornam-se necessários. Para tanto, foi publicada a Portaria IAC 21 de 01/12/2017 com os novos valores para emissão de laudos fitopatológicos pela Clínica.

Deve ser destacado que a principal missão da Clínica é fornecer serviço de alta qualidade a seus clientes, e que os recursos destinam-se ao seu adequado funcionamento, principalmente quanto a qualidade dos insumos utilizados e a manutenção do sistema de gestão da qualidade baseado na ISO 17025.

Desse modo os ajustes inserem-se na política de melhoria contínua de seus produtos e serviços como parte da missão institucional do Centro de Citricultura.

Matéria de Capa

agregação estavam ativos, sugerindo que o DSF produzido pelas plantas estava sendo percebido pelas bactérias de maneira a alterar seu perfil de expressão gênica.

O trabalho em questão teve uma de suas imagens escolhida pela revista MPMI para ilustrar a capa da edição de novembro.

Talvez um dos aspectos mais promissores dos trabalhos envolvendo plantas produzindo DSF seja o fato de que essas moléculas de comunicação produzidas pelas plantas transgênicas atuariam contra duas bactérias que afetam a citricultura. Com certeza os trabalhos não vão parar por aqui. Testes em campo estão em fase de elaboração e porta-enxertos produzindo DSF para enxertia de copas não transgênicas já estão em andamento.

Notas

Visitas ao Centro

No dia 13 de novembro ocorreu a visita de alunos da disciplina de Genética do curso de graduação em Ciências Biológicas da Unesp de Rio Claro, ministrada pela professora Karen C.M. Moraes. Na oportunidade a Pesquisadora Marinês Bastianel proferiu aula sobre o Melhoramento Genético. Cerca de 30 alunos puderam conhecer o programa de melhoramento do Centro de Citricultura e visitar o Banco de Germoplasma de Citros.

No dia 23 de novembro o Centro recebeu a visita de uma comitiva de empresários e políticos oriundos da cidade de Ghanzou, na China, juntamente com o Secretário de Desenvolvimento, de Limeira, Sr. José França Almirall. As Pesquisadoras Mariângela Cristofani-Yaly e Marinês Bastianel apresentaram o Centro e orientaram visita ao Banco de Germoplasma de Citros.

No dia 6 de novembro foram recebidos os alunos do curso de graduação em agronomia do Instituto Federal do Triângulo Mineiro - campus de Uberlândia, MG. Acompanhados pelo Professor Ernesto José Rezende Rodrigues, responsável pela disciplina Viveiros e Propagação de Plantas, os visitantes se interessaram pelas atividades desenvolvidas no Centro, principalmente pelo sistema de

produção de material de propagação e de mudas certificadas de citros no Estado de São Paulo. O grupo foi recepcionado pelo Engº Agrº José Dagoberto De Negri, que apresentou o Centro de Citricultura e o complexo contendo borbulheiras de alta fidelidade genética e de sanidade vegetal comprovada. Finalmente o grupo visitou as instalações do BAG Citros IAC, onde puderam constatar trabalhos sobre a diversidade genética dos citros.

No dia 27 de novembro 25 alunos do curso de graduação em engenharia agrônoma da Esalq/USP, acompanhados pelo Professor José Belasque Júnior visitaram o Centro de Citricultura. Com o objetivo de conhecer as principais doenças da citricultura, o grupo foi recepcionado pelo Engº Agrº José Dagoberto De Negri e pelo doutorando Rodrigo do Vale Ferreira. Durante a visita foram apresentadas resumidamente as atividades desenvolvidas pelo Centro, bem como os trabalhos desenvolvidos com a leprose dos citros no Laboratório de Acarologia, no BAG Citros e nas parcelas das coleções de trabalho com diversos cultivares e suas relações com as principais doenças dos citros.

6º Diálogo Brasil-Alemanha de Ciência, Pesquisa e Inovação

Nos dias 8 e 9 de novembro foi realizado o 6º Diálogo Brasil-Alemanha de Ciência, Pesquisa e Inovação, promovido pela FAPESP. O objetivo desse encontro é destacar os campos de interesse mútuo e estimular o intercâmbio de experiências em três campos principais: biotecnologia industrial, uso de biomassa para aplicações técnicas e, finalmente, produção sustentável de alimentos e alimentos para animais combinado com nutrição saudável. Além disso, o evento visa aumentar a rede entre iniciativas e competências existentes no quadro da bioeconomia em ambos os países. Na ocasião a Pesquisadora Alessandra Alves de Souza apresentou a palestra: "Applied knowledge in plant-pathogen interaction aiming plant disease control".

Atualizações sobre o HLB

Sob organização da Citrosuco SA foi promovido um dia de palestras sobre atualização em manejo e pesquisa sobre HLB. Com cerca de 150 participantes o evento procurou focalizar as principais

estratégias de manejo da doença em diferentes fazendas da empresa, bem como a apresentação sobre resultados de pesquisa. O Pós Doutorando Diogo Manzano apresentou trabalho sobre RNAi no potencial para controle de *Diaphorina citri*, enquanto a Mestranda Tatiany A. T. Soratto apresentou resultados sobre transmissão da bactéria do HLB por enxertia natural de raízes. Agradecimento e parabéns a Citrosuco por essa importante iniciativa.

Workshop de Fitossanidade e Melhoria

Sob a coordenação dos grupos de pesquisa do Centro de Citricultura foi realizado no dia 24 de novembro o Workshop de Fitossanidade e Melhoria. O evento anual tem por objetivo fomentar a discussão de temas informativos, relevantes e aplicáveis as linhas de pesquisa do Centro. Nesta edição, teve a participação da Prof^a Dra. Simone D. Sartorio de Medeiros, da UFSCar, apresentando no período da manhã a palestra “Análise multivariada: a estatística em outras dimensões”.

No período da tarde foram apresentadas duas palestras relacionadas ao tema de Melhoria de Plantas. O Pesquisador da UFSCar Thiago Balsalobre apresentou a palestra “Programa de Melhoria e suas fases” seguida da palestra “Formas de licenciamento e comercialização de variedades”, ministrada pelo Prof. José Adalberto da Cruz.

Divulgação Científica

Aconteceu no dia 30 de novembro na sede do Instituto Agrônomo de Campinas, o 1º Evento de Divulgação Científica do IAC. O evento reuniu profissionais renomados da área da divulgação científica do país, como Natália Pasternak, coordenadora nacional do Pint of Science, Emílio Garcia e Pirula, youtubers do canal BláBlálogia. Também falaram sobre o assunto a assessora de imprensa do IAC Carla Gomes e a pós-doutoranda do Centro de Citricultura Lais Moreira Granato. Além das palestras, os participantes prestigiaram o concurso “A Ciência é POP” que premiou as melhores apresentações de trabalhos de uma maneira criativa e diferente. Uma das ganhadoras foi a mestranda Isis Gabriela também do Centro de Citricultura. O evento foi organizado por alunos da pós-graduação do IAC e também pelos coordenadores

do Descascando a Ciência, Lais Moreira Granato e Paulo José Camargo dos Santos.

Workshop de Microbiologia e Sustentabilidade do Uso do Solo

Entre os dias 22 e 23 de novembro o Pesquisador Fernando Alves de Azevedo, o Doutorando Rodrigo Martinelli e o Mestrando Rodrigo Fernandes de Almeida, ambos ligados à PG-IAC, participaram do First Workshop on Linking Sustainability to Soil Microbiome. O evento juntou pesquisadores brasileiros e holandeses que atuam com temas relacionados à emissão de gases de efeito estufa e microbiologia do solo, com o objetivo de compartilhar resultados de projetos bilaterais em curso Fapesp, CNPq e NWO, e para iniciar novas parcerias.

Reajustes para Emissão de Laudos

Foi publicado a Portaria IAC 21 de 01/12/2017 definindo novos valores para diagnóstico de patógenos de citros para efeito de emissão de laudos fitossanitários.

Portaria IAC - 21, de 1º-12-2017

Dispõe sobre o estabelecimento de valores para fornecimento de serviços de análise de patógenos de citros pela Clínica Fitopatológica de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, em Cordeirópolis

Artigo 1º - O Diretor do Instituto Agrônomo da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento, conforme a Portaria APTA 101 de 11-03-2016, que em seu artigo 5º delega aos Diretores Técnicos de Departamento as atribuições previstas no artigo 112, inciso I, letras o, r e s, do Decreto Estadual 46.488, de 8 de janeiro de 2002, fixa os valores para fornecimento de serviços de análise de patógenos de citros a serem praticados pela Unidade Laboratorial de Referência, a Clínica Fitopatológica do Centro APTA Citros Sylvio Moreira.

Artigo 2º - Os seguintes escopos e valores ficam estabelecidos:

Parágrafo 1º - Detecção de *Phyllosticta citricarpa* por indução de sintomas: R\$ 80,00 até 150 frutos, R\$ 110,00 de 151 a 250 frutos), R\$ 150,00 de 251 a 400 frutos e R\$ 200,00 acima de 401 frutos;

Parágrafo 2º - Detecção de *Phyllosticta citricarpa* por isolamento e ensaio molecular por PCR (reação de polimerase em cadeia) R\$ 50,00 por amostra;

Parágrafo 3º - Detecção de *Candidatus Liberibacter ssp* por ensaio molecular por PCR (reação de polimerase em cadeia) R\$ 25,00 por amostra;

Parágrafo 4º - Detecção de *Phytophthora ssp* por ensaio biológico R\$ 25,00 por amostra;

Parágrafo 5º - Detecção de nematoides dos citros por ensaio biológico R\$ 25,00 por amostra;

Parágrafo 6º - Detecção de *Xanthomonas citri* subsp *citri* por ensaio molecular por PCR (reação de polimerase em cadeia) R\$ 25,00 por amostra;

Parágrafo 7º - Detecção de *Xylella fastidiosa* por ensaio molecular por PCR (reação de polimerase em cadeia) R\$ 25,00 por amostra;

Parágrafo 8º - Detecção de do Vírus da Tristeza dos Citros (CTV) por ensaio imunobiológico (Elisa) R\$ 40,00 por amostra;

Parágrafo 9º - Detecção de do Vírus da Tristeza dos Citros (CTV) por ensaio molecular por PCR (reação de polimerase em cadeia) R\$ 40,00 por amostra;

Parágrafo 10º - Detecção de do Vírus da Leprose dos Citros (GILV) por ensaio molecular por PCR (reação de polimerase em cadeia) R\$ 40,00 por amostra;

Artigo 3º - Esta portaria entra em vigor na data de sua publicação, ficam revogadas às disposições contrárias.

Pesquisa

Manejo ecológico da mancha marrom de alternaria por *Bacillus spp.*

A mancha marrom de alternaria (MMA), causada pelo fungo *Alternaria alternata*, é uma doença que atinge folhas, frutos e ramos de tangerinas, tangores e tangelos. A doença é responsável por danos à produção brasileira, onde as cultivares comerciais mais utilizadas são suscetíveis ao fungo. O controle da doença é realizado através de fungicidas foliares, sendo necessário de 15 a 25 aplicações anuais para um controle efetivo. Considerando o uso intensivo de agroquímicos e, os problemas que essas aplicações trazem ao meio ambiente e aos consumidores, pela quantidade de resíduos nas frutas, o controle biológico, por bactérias do gênero *Bacillus spp.*, torna-se uma alternativa de controle viável e socialmente correta.

Pesquisas realizadas pelo Laboratório de Fitopatologia e Controle Biológico do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC mostraram que a maioria dos 47 isolados de *Bacillus spp.* avaliados *in vitro* afetou o desenvolvimento do fungo, através da produção de metabólitos antifúngicos produzidos pela bactéria. Os resultados de controle em casa de vegetação mostraram que quatro isolados de *Bacillus spp.* (ACB-01, ACB-07, ACB-08 e ACB-57) possuem potencial para controle da MMA. ACB-08 reduziu a severidade da doença, com 42% de folhas sadias, quando aplicado 24 horas após a inoculação do patógeno. Os isolados ACB-01, ACB-07 e ACB-57 proporcionaram 63, 62 e 54% de controle, respectivamente, quando plantas de tangor Murcott foram tratadas com a bactéria preventivamente.

Através desse estudo foi possível comprovar a eficácia de isolados de *Bacillus spp.* para o controle da mancha marrom de alternaria, porém, novos estudos serão realizados para avaliar a eficiência da bactéria sob condições de campo; o seu modo de ação e, conseqüentemente, a produção de um bioproduto a base da bactéria para o controle da doença.

Ariane do Carmo Souza, mestranda e
Katia Cristina Kupper, Pesquisadora

Pesquisa Aplicada

Avaliação e seleção de genótipos de limão

O limão, também conhecido como limão verdadeiro tem grande importância no mundo. No Brasil, as principais cultivares plantadas são Siciliano e Eureka, utilizados principalmente na fabricação de refrigerantes e em menor quantidade ao mercado *in natura*.

É uma constante na pesquisa agrícola a busca por materiais melhorados com rendimento e/ou qualidade superior aos materiais já cultivados. Nesse contexto, trabalho realizado pelo bolsista DTI do CNPq Engo Agro Rodrigo do Vale Ferreira avaliou o desenvolvimento da copa e a qualidade físico-química dos frutos de quatorze genótipos de limão verdadeiro (*Citrus limon*) do Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG Citros), do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC. O plantio foi realizado em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições e duas plantas por parcela, e todas as plantas estão enxertadas em limoeiro Cravo. Os materiais foram avaliados quanto a altura e o diâmetro para a

obtenção do volume de copa e determinação do seu desenvolvimento, após 12 e 24 meses após o plantio. A coleta dos frutos maduros da florada principal foi realizada em maio de 2017, com um total de cinco unidades por repetição.

Os frutos foram submetidos a análise de determinação de parâmetros físicos e químicos e a consequente distinção entre eles. Os resultados mostraram grande variação nos materiais estudados quanto ao desenvolvimento da copa, apresentando materiais de porte menor como Allen Eureka IAC 1730 e Genova IAC 297 (Figura) com potencial para plantios adensados. As

variedades Allen Eureka IAC 1730, Jaraguá do Sul IAC 613 e Woglum IAC 271 apresentaram os frutos com menores massas

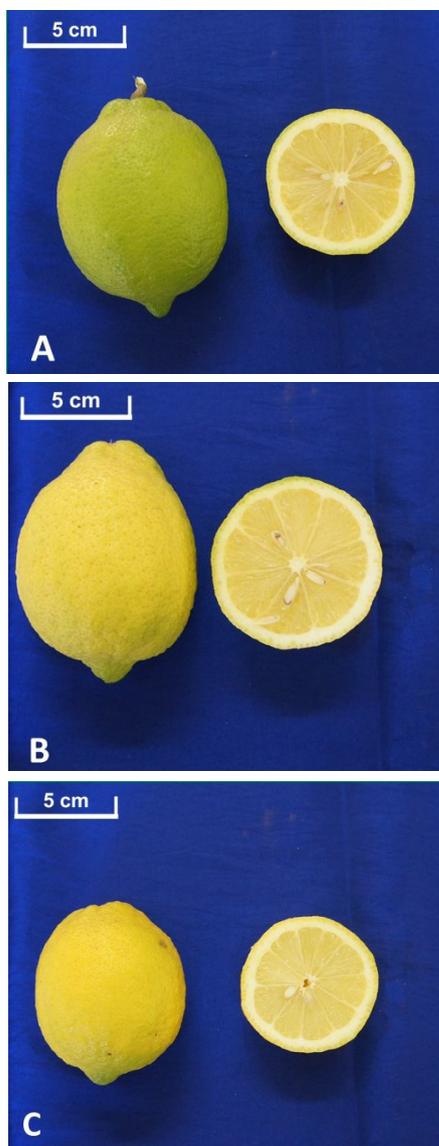
(138,66 g, 140,66 g e 140,66 g respectivamente). Kusner IAC 282 e Meyer IAC 630 com médias de 219,00 g e 228,66 g

foram os frutos de maior massa, com destaque para Deba Ahmed IAC 272 que se mostrou um genótipo exótico e com frutos extremamente grandes,

com massa média de 396,33 g. Quanto a qualidade de fruto os genótipos Meyer IAC 630 e Genova IAC 297 (Figura) se

destacaram com maiores teores de sólidos solúveis, vitamina C e rendimento em suco. É importante ressaltar que novos estudos são necessários para

avaliação do comportamento desses materiais quanto a pragas e doenças, porta-enxertos, níveis de adubação e clima.



Genótipos que se destacaram nas avaliações:
A- Meyer IAC 630, B- Genova IAC 297 e
C- Allen Eureka IAC 1730



Expediente

Informativo Centro de Citricultura

Conselho Editorial

José Dagoberto De Negri
Marcos Antonio Machado
Vivian Michelle dos Santos

Colaboração

Alessandra Alves de Souza
Ariane do Carmo Souza
Fernando Alves de Azevedo
Katia Cristina Kupper
Laís Moreira Granato
Marinês Bastianel
Raquel Caserta
Rodrigo Ferreira do Vale
Rodrigo Rocha Latado

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

www.ccsm.br
informativo@ccsm.br

Mala Direta Básica

CNPJ-61705380/0001-54 - DR/SP1
Fundação de Apoio
à Pesquisa Agrícola

