

O AGRÔNÔMICO

Boletim Técnico-Informativo do Instituto Agrônômico - Volume 72 - 2020 - Série Técnica APTA - ISSN 0365-2726



**Fez a história e parte da
construção da nova
agricultura brasileira**





MISSÃO

Gerar e transferir ciência, tecnologia e produtos para otimização dos sistemas de produção vegetal, com responsabilidade ambiental, visando ao desenvolvimento socioeconômico e à segurança alimentar por meio da pesquisa, da formação de recursos humanos e da preservação do patrimônio.

► www.iac.agricultura.sp.gov.br

ÍNDICE

Entrevista IAC.....	1
Cultivares IAC.....	6
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café, o INCT do café	13
Estratégias biotecnológicas e genômicas no melhoramento do cafeeiro.....	21
Cafés especiais - qualidade diferenciada	32
Mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar (MPB): avanços e soluções	41
Melhoramento da cana-de-açúcar: seleção de genótipos para ambientes específicos ...	49
Cana geneticamente modificada: uma tecnologia disruptiva para aumento da produtividade e sustentabilidade	57
INCT de Plataformas de Genômica Comparativa, Funcional e Melhoramento Assistido de Citros (INCT Citros)	63
Citricultura de mesa: variedades copa e porta-enxertos.....	74
Clorose variegada e cancro cítrico: estratégias biotecnológicas e genômicas para manejo sustentável	80
Citros geneticamente modificados: potencial de edição de genoma.....	90
Instituto Agrônomo - Quarentenário IAC	96
Programa de Pós-Graduação do Instituto Agrônomo.....	99
Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT-IAC): avanços desde a sua criação.....	104
Clínica fitopatológica dos citros.....	114
Ensaio de proficiência IAC para laboratórios de análise de solo: colaborando para que laboratórios privados prestem um bom serviço ao agricultor	116
A importância da normatização: o caso das vestimentas de proteção para aplicadores de agrotóxicos.....	118

O AGRÔNOMICO

v. 72 | 2020

Editorial

Aprofundar estratégias de biotecnologia e genômica visando à solução de problemas nas cadeias de produção dos citros, café e cana-de-açúcar tem sido objetivo de pesquisas desenvolvidas no Instituto Agrônomo (IAC). Esta edição de **O Agrônomo** apresenta ações de pesquisas nessas cadeias de produção que priorizam problemas específicos, com proposta de soluções que envolvem o melhoramento molecular, utilizando a edição gênica e/ou transformação genética. Dessa forma, no **O Agrônomo** deste ano são abordados temas como (i) Estratégias biotecnológicas e genômicas no melhoramento do cafeeiro, (ii) Cafés especiais - qualidade diferenciada, (iii) Cana geneticamente modificada: uma tecnologia disruptiva para aumento da produtividade e sustentabilidade, (iv) Clorose variegada e cancro cítrico: estratégias biotecnológicas e genômicas para manejo sustentável, (v) Citros geneticamente modificados: potencial de edição de genoma, entre outros. Os capítulos objetivam explorar a plataforma de competência existente no IAC para essas três culturas, propondo avanços para soluções de problemas limitantes nessas cadeias de produção, de relevância econômica e social para o Estado. **O Agrônomo** apresenta também a relação e uma breve descrição das cultivares IAC registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em 2019. As páginas azuis trazem entrevista com o Secretário de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Gustavo Junqueira, abordando potenciais contribuições dos institutos paulistas de pesquisa agropecuária frente ao uso de estratégias biotecnológicas e genômicas, o desenvolvimento de pesquisas orientadas a soluções de problemas e a inserção de seus resultados. Também são apresentadas as ações da Clínica Fitopatológica dos Citros, do Quarentenário IAC e do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical.

Boa leitura.

Gabriel C. Blain
Patrícia Cia
Marcos Antonio Machado
Editores



Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto Agrônomo

Governador do Estado de São Paulo
João Doria

Secretário de Agricultura e Abastecimento
Gustavo Junqueira

Secretária-executiva de Agricultura e Abastecimento
Gabriela Chiste

Coordenador da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Antonio Batista Filho

Diretor Técnico de Departamento do Instituto Agrônomo
Marcos Antonio Machado

O AGRÔNOMICO
(Instituto Agrônomo)
Campinas, SP
1941-1; 1949-2011 1-63
(Série Técnica Apta)

A partir do v. 52, n. 1, faz parte da Série Técnica APTA da SAA/APTA.
A eventual citação de produtos e marcas comerciais não expressa, necessariamente, recomendação de seu uso pela Instituição.

É permitida a reprodução parcial, desde que citada a fonte. A reprodução total depende da anuência expressa do Instituto Agrônomo.

O AGRÔNOMICO
Boletim Técnico-Informativo do Instituto Agrônomo
Volume 72 - 2020
Série Técnica APTA
ISSN 0365-2726
oagronomico@iac.sp.gov.br

Editores
Gabriel C. Blain
Patrícia Cia

Editoração, arte final eletrônica e capa
Amaro Comunicação - Cintia Rafaela Amaro

Revisão
Lúcia Helena Signori Melo de Castro



Entrevista IAC

1) Como a SAA avalia as potenciais contribuições dos institutos paulistas de pesquisa agropecuária frente ao uso de estratégias biotecnológicas e genômicas para qualidade, produtividade e manejo sustentável de citros, café e cana-de-açúcar?

Desafios de elevada grandeza, como os vivenciados no agro nacional, exigem ciência de altíssima competência. É a base da citricultura brasileira, reunindo cientistas de relevância global e infraestrutura que os permite trabalhar em rede com os principais centros do mundo. Não por acaso o Brasil tem a maior produção citrícola do mundo.

A biotecnologia vem, com suas diversas ferramentas, como a edição gênica, auxiliar o melhoramento genético convencional, que constitui o carro-chefe das atividades de pesquisa dos institutos da Secretaria de Agricultura e Abastecimento desde 1887. Esses recursos da

biotecnologia contribuem para a compreensão dos mecanismos das doenças que atacam as lavouras. São instrumentos que também viabilizam acelerar processos na obtenção de cultivares mais resistentes e/ou tolerantes a pragas e doenças, ao estresse hídrico, mais produtivas e com qualidades desejadas pelos consumidores.

No caso do café, que é planta perene assim como os citros, a biotecnologia permite acelerar o alcance de resultados. A observação de genomas das plantas pode gerar respostas que exigiriam anos de pesquisas pelos métodos convencionais.

No setor sucroenergético, onde o estado de São Paulo é o protagonista mundial, a biotecnologia é adotada visando ao aumento da produtividade e, desde 2005, nossos pesquisadores trabalham com os marcadores moleculares e edição gênica.

É dessa forma que promovemos o avanço do conhecimento dos mecanismos das doenças e pragas, conhecendo a genética e a fisiologia das plantas, e a biotecnologia orienta os caminhos para estabelecer estratégias de manejo nos campos paulistas e brasileiros. O conhecimento básico contribui com o conhecimento aplicado e acabam por chegar em produtos e serviços que atendem os usuários das tecnologias paulistas nos diversos segmentos do agro.

2) Recentemente, a FAPESP lançou o Edital "Núcleos de Pesquisa Orientada a Problemas em São Paulo (NPOP-SP) do Programa Ciência para o Desenvolvimento" e alguns dos institutos de pesquisa da SAA encaminham propostas. Como a Secretaria avalia a possibilidade efetiva de seus institutos realizarem suas pesquisas em plataforma colaborativa, com universidades nacionais e internacionais e empresas privadas, visando a busca de solução de problemas relevantes para o desenvolvimento do estado de São Paulo?

Os "Núcleos de Pesquisa Orientada a Problemas em São Paulo, do Programa Ciência para o Desenvolvimento", buscam investir recursos em projetos e pesquisas internacionalmente competitivos de médio e longo prazo. O objetivo é que esses núcleos desenvolvam pesquisas inovadoras para resolver problemas

enfrentados pelo estado de São Paulo.

Nunca um edital com essa orientação foi feito pela FAPESP, principalmente, colocando os institutos de pesquisa, que desenvolvem pesquisas aplicadas, como líderes. Este é um fato inédito e muito importante.



Na prática, o edital propõe que governo, academia e iniciativa privada se integrem para inovar e resolver problemas, no nosso caso, relacionado ao agronegócio. Os institutos de pesquisa da Secretaria de Agricultura e Abastecimento desenvolveram três propostas de núcleos sendo (i) desenvolvimento de ingredientes saudáveis para a indústria de alimentos a partir de resíduos, (ii) desenvolver novos bioprodutos para a agricultura tropical e (iii) aumentar a produtividade, qualidade e manejo sustentável de citros, cana e café, por meio da biotecnologia. Esses projetos reúnem mais de 180 pesquisadores dos

seis institutos de pesquisa agropecuária do estado e também do setor privado.

A orientação do estado é para que a pesquisa se concentre na resolução de problemas graves para São Paulo e, no caso do agro, que também considerem as demandas do consumo mundial, restrições do meio ambiente e desafios para aumento do valor agregado da agroindústria.

Essa orientação de resolver problemas exige uma reorganização de toda a pesquisa desenvolvida na Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Temos trabalhado para reorganizar os projetos, a fim de que os trabalhos sejam feitos de forma integrada, em rede e, com essa orientação, contribuam com as demandas da sociedade mundial.

3) A SAA tem como visão fazer de São Paulo um dos principais e mais competitivos ecossistemas agro. Considerando a inovação, o empreendedorismo e a gestão de risco, como a Secretaria avalia, nesse contexto, a inserção dos resultados de pesquisas realizadas em seus institutos?

São Paulo tem um dos principais e mais competitivos ecossistemas do agronegócio e de inovação e isso não é por acaso. Nossa nação possui muitas riquezas: vasto território agrícola, rico meio ambiente, setor privado como protagonista e a uma cultura de ciência

do agro amplamente difundida. Esse conjunto nos permitiu chegar até aqui e nos conduzirá ao futuro, produzindo cada vez mais alimentos seguros e saudáveis, fibras e bioenergia a baixo custo para abastecer o mundo.



A pesquisa e a inovação desenvolvida pelos pesquisadores da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo é fundamental para o sucesso do agro paulista. Temos um dos três principais programas de melhoramento genético de cana do Brasil e somos líderes na produção de citros no mundo.

Temos ainda contribuições na área de insumos biológicos, ativos importantes para o ecossistema do agronegócio, já que sem eles, o futuro da produção agropecuária estará comprometido. Somos referência na produção de imunobiológicos, o que nos credencia para sermos o maior *player* no comércio internacional de carne bovina. Esses são alguns exemplos, mas temos muitos outros.

4) Quais devem ser as estratégias dos institutos da SAA para ampliar cada vez mais essa inserção?

Temos como filosofia na Secretaria a integração e o trabalho em conjunto. Acreditamos que isso será fundamental para ampliarmos nossos resultados, para inovarmos e termos instituições fortes e alinhadas às demandas mundiais.

O corpo de pesquisadores é altamente capacitado. Hoje são 501 pesquisadores científicos com doutorado e pós-doutorado. Trabalhar com foco, integrados, privilegiando o talento de cada um, mas com a responsabilidade de fortalecer a instituição "Agro de São Paulo" é o que nos permitirá ocupar um lugar de relevância no mundo da inovação.

5) A história do Brasil como país independente iniciou-se em 1822. O Instituto Agrônomo foi fundado em 1887, contribuindo desde então para o agronegócio brasileiro. Considerando as grandes transformações ocorridas ao longo de toda essa história, como a SAA planeja o futuro de seus institutos de pesquisa?

As instituições de pesquisa do agro brasileiro foram e são fundamentais para o país. A pesquisa realizada em São Paulo tem resultados marcantes, como o desenvolvimento das variedades de café que ocupam 90% do parque nacional e o

desenvolvimento de cultivares-copa de citros que estão em 95% dos pomares cítricos brasileiros. Isso sem contar nos resultados das pesquisas com grãos, horticultura, frutas, solos, tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas e muitos outros que ajudaram e ainda ajudam a construir um agro eficiente, moderno, produtivo e rentável. Fizemos um trabalho brilhante até aqui, mas precisamos continuar a evoluir, pois os ganhos do setor continuarão a ser conquistados por meio da ciência, tecnologia e inovação.



Desta forma, temos trabalhado, desde o início desta gestão, a preparar nossas instituições de pesquisa para continuarem relevantes no cenário científico atual. Foi feito um trabalho intenso para diagnosticar a inserção das pesquisas em 18 cadeias produtivas. A partir disso, começamos a discutir a

nova programação científica, definindo três áreas estratégicas de atuação: inovação e tecnologias emergentes; sustentabilidade e segurança alimentar e 13 programas de pesquisa alinhados às diretrizes da política pública Cidadania no Campo.

Esperamos assim, integrar as equipes, aumentar a eficiência, ampliar as parcerias com o setor privado e uma enorme preocupação em formar novas lideranças. Acreditamos que esse trabalho ajudará os institutos de pesquisa a se planejarem e estarem preparados para o futuro.

6) Como a SAA avalia os impactos causados pela pandemia do COVID-19 na geração e transferência de tecnologias ao setor produtivo?

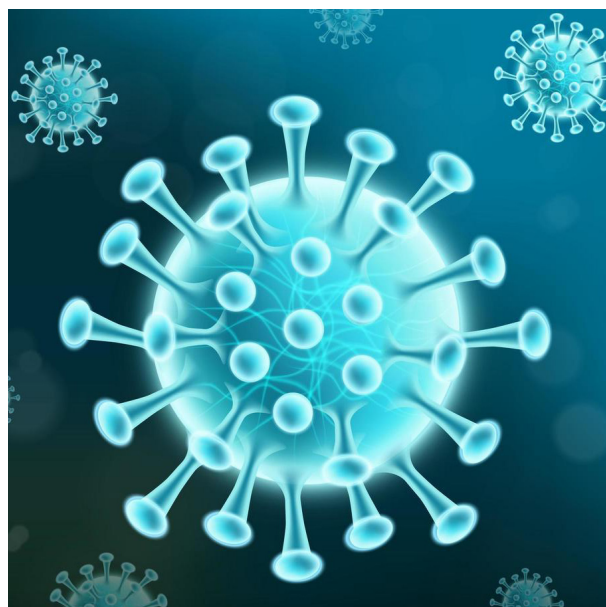
A pandemia veio e abalou as estruturas e as formas de trabalho. É importante destacar que neste período o agro não parou e contribuiu com sua missão de continuar produzindo e abastecendo a população mundial. Não tivemos em nenhuma cidade paulista o desabastecimento, dando uma lição para todo o mundo.

Mas a pandemia provocou impacto em diversos elos da cadeia e pode ter dificultado ações relacionadas a geração e transferência de tecnologias.

Mudanças foram feitas para continuar nossas atividades, desenvolvendo os projetos

de pesquisa e prestando serviços ao cidadão.

Os pesquisadores encontraram outras formas de transferir conhecimento ao setor produtivo, por meio de eventos on-line. De abril a julho de 2020, por exemplo, os pesquisadores da Secretaria de Agricultura e Abastecimento participaram de 70 lives, aproximadamente.



Na Secretaria de Agricultura e Abastecimento temos também trabalhado para digitalização de algumas atividades, como o caso do Sistema de Gestão de Defesa Animal Vegetal (GEDAVE) que passou a emitir, de forma eletrônica, a Permissão de Trânsito Vegetal (PTV) e as Guias de Trânsito Animal (GTA), de forma totalmente independente e autônoma. Além disso, desenvolvemos diversas cartilhas e materiais on-line, relacionadas à pandemia, para orientar os agricultores.



Cultivares IAC

Adriano Tosoni da Eira Aguiar¹
Charleston Gonçalves²

O Instituto Agronômico (IAC), em 2019, disponibilizou 23 (vinte e três) cultivares, todas disponíveis comercialmente, atendendo às diversas cadeias produtivas do agronegócio com características inovadoras tais como: elevada produtividade, resistência a doenças e pragas, longevidade pós-colheita e cultivo sustentável.

Milho Pipoca IAC 98



A cultivar IAC 98 apresenta ciclo super precoce com florescimento masculino em torno de 58 dias após semeadura, al-

tura média da planta de 208 cm e da espiga de 113 cm, comprimento médio de espiga de 15,7 cm, diâmetro médio das espigas de 30,6 mm, número médio de fileiras de grãos na espiga de 15,7, grãos duros tipo pérola de cor laranja forte, peso médio de 1.000 grãos de 146 g, peso hectolítrico de 87,5 kg 100 L⁻¹. Apresenta resistência moderada à ferrugem comum, mancha de feosféria (pinta branca), cercospora, mancha de turcicum e a podridões de espiga; foi suscetível ao complexo de enfezamento e ferrugem polissora. É adaptada para todo estado de São Paulo, principalmente nas regiões centro e sul, de média a alta altitude.

¹ IAC - Centro de Pesquisa de Café "Alcides Carvalho", Campinas (SP). aguiar@iac.sp.gov.br

² IAC - Centro de Pesquisa de Horticultura, Campinas (SP). charleston@iac.sp.gov.br

Sorgo IAC Brandelisa



Cultivar de porte médio, com altura média de 2,45 m. Suas panículas apresentam tamanho médio. É resistente ao tombamento e apresenta resistência moderada ao ataque da *Spodoptera frugiperda*. Possui tolerância à seca e ao herbicida atrazina em pré-emergência. Adaptada para as regiões centro e oeste do estado de São Paulo, para ambientes de baixa a média altitude, em plantio de verão e tardio até fevereiro. Floresce com 76 dias e seu ciclo total é de 110 dias. Deve-se evitar plantios tardios a partir de março, devido à sensibilidade ao fotoperíodo e maior incidência de ergot.

Sorgo IAC Sarte



Apresenta porte médio, com altura média de 2,29 m. É resistente ao tombamento e apresenta resistência moderada ao ataque da *Spodoptera frugiperda*. Possui tolerância à seca e ao herbicida atrazina em pré-emergência. Adaptada para as regiões centro e oeste do estado de São Paulo, para ambientes de baixa a média altitude, em plantio de verão e tardio até fevereiro. Floresce com 67 dias

e seu ciclo total é de 108 dias. Deve-se evitar plantios tardios a partir de março devido à sensibilidade ao fotoperíodo e maior incidência de ergot.

Milho IAC 8098



Apresenta grãos alaranjados, tipo semi-dentado, com constituição química de grãos de endosperma normal e florescimentos masculino e feminino de 65 e 66 dias, respectivamente. Altura de planta com 2,29 m, altura de espiga 1,23 m, peso de 1.000 sementes de 308 g e peso hectolítico de 79 kg 100 L⁻¹. É tolerante à seca e ao herbicida tembotrione. Apresenta resistência moderada à ferrugem, à mancha foliar, à pinta branca, ao complexo de enfezamento e à cercospora.

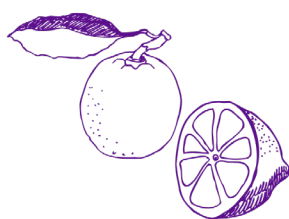
Milho IAC 8053



Possui grãos amarelos dentados, espigas cilíndricas, com características desejáveis para milho verde, bom empalhamento, grãos profundos (12,9 mm) e pericarpo fino (52,0 mm), com constituição química de grãos de endosperma normal, com a seguinte constituição química: 71,5% amido; 10,3% de proteína; 4,8% de lipídios; 2,0% de açúcares e 1,4% de cinzas. Florescimentos masculino e feminino de

65 e 66 dias, respectivamente. Altura de planta com 2,43 m, altura de espiga 1,31 m, peso de 1.000 sementes de 338 g e peso hectolítrico de 75,9 kg 100 L⁻¹. É tolerante à seca e ao herbicida tembotrione. Apresenta resistência moderada à ferrugem, à mancha foliar, à pinta branca, ao complexo de enfezamento e à cercospora.

Citrandarín IAC 1600



Planta com altura média, ramos de crescimento semi-ereto. Os frutos amadurecem de março a maio, são pequenos, com massa média de 55 g, ligeiramente achatados, casca aderente e lisa, com pouca pubescência, cor alaranjada e com 30 sementes em média. O suco tem sabor acre e coloração esverdeada. É indicada para o estado de São Paulo. É tolerante à tristeza e ao declínio e apresenta boa resistência à gomose de *Phytophthora nicotianae* e à seca. Sugerido na diversificação dos porta-enxertos para a citricultura.

Amendoim IAC Sempre Verde



A importância da nova cultivar para o mercado de amendoim, tanto nacional como internacional, está na sua inédita e destacada resistência a doenças foliares. O

custo de produção da IAC Sempre Verde é menor do que a de outras cultivares em função da drástica redução no uso de fungicidas. A IAC Sempre Verde produz grãos relativamente pequenos e de pele vermelha. Embora essas não sejam características mais difundidas atualmente no mercado, o seu padrão remete aos amendoins tradicionalmente produzidos no Brasil e que hoje ainda são existentes como um nicho de mercado. Outro ponto a considerar sobre esse padrão para nicho de mercado, é o seu potencial como produto orgânico. A necessidade de uso de fungicidas sintéticos de alta eficiência em cultivares suscetíveis a doenças é um dos fatores mais limitantes para a inserção do amendoim na agricultura orgânica.

Feijão IAC 1849 Polaco



Possui alta qualidade de grãos e elevada tolerância ao escurecimento, com tempo reduzido de cocção, sendo do tipo carioca. Considerando a precocidade e produtividade obtida, tolerância à antracnose e ao *Fusarium oxysporum* sendo recomendada para cultivo na época das "águas", da "seca" e de "inverno" no estado de São Paulo. Pode ser também recomendada para a época das "águas" e da "seca" nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul.

Cana-de-açúcar IACSP-042503



Possui hábito de crescimento semiereto, elevada altura, diâmetro de colmo fino-médio, internódios de comprimento médio, gema do tipo rombóide com pouca

saliência nos nós e número de colmos de 13 a 15,5 colmos m^{-1} . Adaptada para a região centro-sul do estado de São Paulo. Apresenta comportamento estável quanto ao ambiente de produção. Em outras palavras, essa cultivar apresenta aumento linear de produtividade em relação à melhoria nas condições do ambiente de produção. É resistente à ferrugem alaranjada e ao carvão.

Cana-de-açúcar IACSP-043158



Touceira com hábito de crescimento levemente decumbente, elevada altura, diâmetro de colmo médio, internódios de comprimento médio, gema do tipo redonda

com pouca saliência nos nós, número de colmos de 10,5 a 12,5 colmos m^{-1} . É adaptada para a região centro-sul do estado de São Paulo.

Cana-de-açúcar IACSP-047060

Cultivar com média exigência à fertilidade do solo, ótima

opção para ser colhida na safra de inverno. Outra característica favorável é a alta produtividade de colmos, em altitude de 459 a 977 m. O comportamento produtivo é correlacionado principalmente com a fertilidade quantidade de água no solo.

Cana-de-açúcar IACCTC-052562



Touceira com hábito de crescimento levemente decumbente, elevada altura, diâmetro de colmo médio, internódios de comprimento médio, gema do tipo triangular

com média saliência nos nós, número de colmos de 12 a 13 colmos m^{-1} . Adaptada para a região centro-sul do estado de São Paulo.

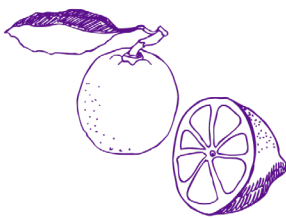
Cana-de-açúcar IACCTC-059561



Cultivar de baixa a média exigência em relação à fertilidade do solo. Constituí-se em ótima opção para ser colhida na safra de outono e inverno. Outra caracte-

rística favorável é a alta produtividade de colmos. Foi estudada em altitude de 442 a 1.000 m, apresentando comportamento produtivo correlacionado principalmente à adaptabilidade edafoclimática.

Citrus Navelina XR



Possui porte médio, copa com formato típico das laranjeiras-de-umbigo e folhas mais espessas que as demais laranjeiras do grupo. Os frutos possuem maturação precoce a meia estação e conservam-se nas plantas após atingirem a maturidade comercial, mas com certo grau de granulação. A cultivar é resistente à Clorose Variegada dos Citros (CVC ou amarelinho) e não apresentou caneluras à tristeza dos citros. É suscetível as demais pragas e doenças que afetam as laranjeiras doces, a exemplo do *Huanglongbing* (*greening*). Indicada para o estado de São Paulo e com possibilidade de adaptação a regiões aptas para o cultivo de laranjas-de-umbigo. Atende ao mercado de fruta fresca, com período de colheita precoce, boa produtividade média por planta e frutos com poucas sementes.

Sorgo granífero IAC 7021



É resistente ao acamamento (11,9%) e apresenta resistência moderada ao ataque da *Spodoptera frugiperda*. Possui tolerância à seca e ao herbicida atrazina em pré-emergência. Apresenta boa adaptação para os estados de São Paulo, Minas

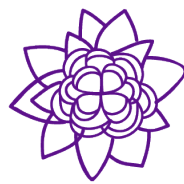
Gerais e Goiás em plantio de safrinha (fevereiro a março). Os grãos do sorgo granífero tem em média 63,2% de amido, 2,96% de óleo, 9,0% de proteína bruta, energeticamente tem 3.189 kcal para aves e 3.315 kcal para suínos.

Bastão-do-imperador IAC Charlie



Possui altura de 5,3 m, comprimento médio da haste floral de 87 cm, brácteas de coloração rosa escuro, com formato de taça, com miolo pouco projetado e massa da inflorescência padronizada a 80 cm, de 166 g. As suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 7,9 cm e coloração da haste floral vinho. As inflorescências apresentam durabilidade média pós-colheita de 12 dias, sem o uso de soluções conservantes. É recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte. Como característica diferencial destaca-se a massa reduzida das inflorescências, seu formato de taça e boa durabilidade pós-colheita.

Bastão-do-imperador IAC Dom Pedro



Possui altura de 4,8 m, comprimento médio da haste floral de 52 cm, brácteas de coloração vinho, com formato de taça, com miolo

pouco projetado e massa da inflorescência padronizada a 50 cm, de 118 g. Suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 8,7 cm e coloração da haste floral vinho. As inflorescências apresentam durabilidade média pós-colheita de 10 dias, sem o uso de soluções conservantes. É recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte. Como característica diferencial destaca-se a massa reduzida das inflorescências, seu formato de taça e boa durabilidade pós-colheita.

Bastão-do-imperador IAC Príncipe



A planta possui altura de 5,3 m, comprimento médio da haste floral de 82 cm, brácteas de coloração vermelho médio, taça com miolo pouco projetado e massa da inflorescência padronizada a 80 cm, de 178 g. Suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 8,1 cm e coloração da haste floral vinho. As inflorescências apresentam durabilidade média pós-colheita de 11 dias, sem o uso de soluções conservantes. É recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte. Como característica diferencial destaca-se a massa reduzida das inflorescências, seu formato de taça e boa durabilidade pós-colheita.

Gengibre ornamental IAC Angatu



Planta herbácea, rizomatosa, perene e robusta. Possui comprimento médio da haste floral de 63 cm, brácteas com coloração amarela esverdeada, tingindo-se de laranja gradativamente e vermelha na maturidade, formato de cone e massa da inflorescência de 280 g. Suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 8 cm, e as brácteas são livres. A durabilidade média pós-colheita é de 23 dias. É recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte. Como característica diferencial destaca-se a boa durabilidade pós-colheita, diferenças de massa, tamanho da inflorescência e outras características morfológicas.

Gengibre ornamental IAC Anchieta



Planta herbácea, rizomatosa, perene e robusta. Possui comprimento médio da haste floral de 80 cm, brácteas com coloração amarela, tingindo-se de laranja gradativamente e vermelha na maturidade, formato de cone e massa da inflorescência de 200 g. Suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 6,5 cm e as brácteas são livres. A durabilidade média pós-colheita é de 22 dias. É recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte. Como caracte-

ística diferencial dessa cultivar destaca-se a boa durabilidade pós-colheita, a excepcional produtividade, e diferenças de massa, tamanho da inflorescência, possibilitando maior eficiência no transporte e na comercialização.

Gengibre ornamental IAC Almada



Planta herbácea, rizomatosa, perene e robusta. Possui comprimento médio da haste floral de 60 cm, brácteas com coloração amarela com manchas rosa, tingindo-se de laranja gradativamente e vermelha na maturidade, formato de cone e massa da inflorescência de 140 g. Suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 8 cm e as brácteas são imbricadas. A durabilidade média pós-colheita é de 21 dias. É recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte. Como característica diferencial dessa cultivar destaca-se a boa durabilidade pós-colheita, diferenças de massa, tamanho da inflorescência bem como brácteas amarelas com manchas rosadas, possibilitando maior eficiência no transporte e na comercialização.

Gengibre ornamental IAC Ubatumirim



Planta herbácea, rizomatosa, perene e robusta. Possui comprimento médio da haste

floral de 42 cm, brácteas com coloração verde, tingindo-se gradativamente até vermelha na maturidade, formato de cone e massa da inflorescência de 180 g. Suas inflorescências apresentam diâmetro médio de 5,5 cm e as brácteas são imbricadas. A durabilidade média pós-colheita é de 22 dias. Em função de suas características o IAC Ubatumirim é recomendado tanto como planta de jardim como para uso como flor-de-corte.

Amendoim IAC OL 6



A nova cultivar apresenta padrão Alto Oleico (teor de ácido oleico superior à 70%). Esta característica é atualmente valorizada pelo mercado, principalmente o de exportação. As antigas cultivares IAC 886 e IAC Caiapó não possuem essa característica (teores de ácido oleico ao redor de 50% ou abaixo). Possui moderado teor de óleo (47,9%), o que para o mercado de confeitaria é um atributo importante uma vez que elevados teores de óleo podem levar à rejeição pelos processadores. Também possui maior tamanho de grãos (importante diferencial comercial), além da sua elevada produtividade e estabilidade aos diferentes ambientes. Para o atual mercado de amendoim tipo "runner" (produto para confeitaria), o maior tamanho dos grãos valoriza a sua qualidade física.



Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café, o INCT do café

Mário Lúcio Vilela de Resende¹
Bárbara Alves dos Santos-Ciscon²
Luciano Vilela Paiva¹
Whasley Ferreira Duarte¹
Deila Magna Santos Botelho¹
César Elias Botelho³

Introdução

A cafeicultura no Brasil possui histórica relevância econômica e social, traduzidas principalmente pela participação nas exportações brasileiras, como pela capacidade de geração de empregos nos diversos setores de sua cadeia produtiva. A região sul de Minas Gerais é a maior região produtora de café do Brasil, correspondendo a aproximadamente 25% da produção nacional de café. Em 2008 foi instalado nesta região, o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café (INCT do Café), uma iniciativa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico

co e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (Fapemig). Sediado no Campus da Universidade Federal de Lavras - UFLA (Figura 1) e com apoio financeiro do CNPq, Fapemig e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), o INCT do Café faz parte de um dos maiores programas de Ciência e Tecnologia do Brasil.

Missão e objetivos

O Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café tem como missão a geração de tecnologias apropriadas, competitivas e sustentáveis, por meio

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café (INCT do Café). mlucio@ufla.br; luciano@ufla.br; whasleyduarte@ufla.br; deilamagna@hotmail.com

² Universidade Federal de Lavras - UFLA - Departamento de Fitopatologia. barbarasciscon@gmail.com

³ Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig). cesarbotelho@epamig.br

da integração de competências institucionais, capacitação de recursos humanos, estímulo à capacidade de inovação e geração de negócios de alto valor agregado na cadeia produtiva do café. Nesse sentido, foram definidos cinco principais objetivos de pesquisa, contemplando diversas áreas do conhecimento, para nortear as atividades desenvolvidas pelo INCT do Café, sendo eles:

- 1 - Aprimorar e integrar o melhoramento clássico e molecular do cafeeiro;
- 2 - Aplicar conhecimentos de biotecnologia na cafeicultura;
- 3 - Inovar no manejo de pragas e doenças do cafeeiro;

4 - Desenvolver sistemas inovadores de produção de café;

5 - Agregar valor na qualidade da bebida e desenvolver novos produtos para a indústria.

O INCT do Café está também envolvido com a formação de recursos humanos especializados em cafeicultura e treinamento de mão de obra especializada; divulgação de serviços, produtos e processos (transferência de conhecimento para o setor empresarial) e divulgação da ciência para o público em geral (transferência de conhecimentos para a sociedade).



Figura 1. Prédio da Agência de Inovação do Café, INOVACAFÉ, onde está situada a sede do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café, INCT do Café, na UFLA, Lavras (MG).

Parcerias

O INCT do Café (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café) é constituído por uma rede de dez linhas de pesquisa com forte cooperação interdisciplinar e interinstitucional. Esta parceria pode ser exemplificada pelas linhas de pesquisa relacionadas ao melhoramento genético do cafeeiro, na qual interagem principalmente pesquisadores da EPAMIG, IAC, UFV, UFLA e IAPAR, e pelas linhas de pesquisa relacionadas ao manejo de pragas e doenças e nas relacionadas à cultura de tecidos, clonagem e transformação genética (UFLA, UFV, Embrapa e IAC). No que tange aos estudos de biotecnologia aplicada do cafeeiro participam principalmente o IAC, IAPAR, Embrapa, UFV, UFLA e INCAPER. Recentemente, a parceria promovida pelo INCT do Café entre várias instituições no Brasil e nos Estados Unidos, resultou no sequenciamento do genoma completo do fungo causador da ferrugem do cafeeiro, *Hemileia vastatrix* (Porto et al., 2019).

Além da parceria já mencionada, projetos de cooperação técnica com o CIRAD (*Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement* - França), estudam os mecanismos de tolerância à seca no cafeeiro. A equipe também participa ativamente do Consórcio Internacional do Sequenciamento do Genoma do Café (*International Coffee Genome Sequencing Consor-*

tium), do qual fazem parte pesquisadores do Brasil vinculados ao INCT do Café, além de pesquisadores da França, Itália, USA, Canadá, Índia e Austrália.

O conhecimento gerado pelo INCT do Café tem promovido vantagens competitivas para o setor cafeeiro, focando-se em inovação e articulação. Além de realizar pesquisa básica e aplicada, o INCT do Café possui forte enfoque tecnológico, procurando resolver algumas deficiências técnicas existentes na produção do café e de seus possíveis subprodutos. O INCT do Café, também investe na formação de recursos humanos especializados para a cafeicultura, principalmente no que se refere à biotecnologia e suas aplicações, tendo treinado estudantes de pós-graduação e pós-doutores em centros de excelência no exterior, a exemplo da *University of Florida*, do *Delaware Biotechnology Institute* (DBI), ligado a *University of Delaware* nos Estados Unidos, além do Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC) em Oeiras, Portugal.

Cultivares resistentes

De maneira geral, a obtenção de uma nova cultivar de café demanda aproximadamente 7 a 8 ciclos de cruzamentos/autofecundações, o que requer cerca de 35 anos de trabalho. Várias cultivares resistentes à ferrugem, tolerantes à seca, bicho mineiro e nematoides, e com

boa qualidade de bebida foram desenvolvidas com o apoio do INCT do Café, no âmbito do IAC, Epamig e Fundação ProCafé, principalmente. Destacamos

aqui o desenvolvimento da cultivar MGS Aranãs (Figura 2), com resistência vertical à ferrugem e do clone 312, resistente à ferrugem e bicho mineiro.



Figura 2. Prof. Mário Lucio Vilela de Resende, coordenador do INCT do Café no painel de cultivares resistentes à ferrugem do cafeeiro. À esquerda, a cultivar resistente MGS Aranãs e à direita, a cultivar suscetível Travessia.

A cultivar MGS Aranãs originou-se do cruzamento, iniciado em 1985 no Campo Experimental da EPAMIG em São Sebastião do Paraíso, das cultivares Icatu Vermelho IAC 3851-2 e Catimor UFV 1602-215, ambas portadoras de resistência genética ao agente causador da ferrugem do cafeeiro. A cultivar MGS Aranãs foi testada nas regiões sul de Minas (São Sebastião do Paraíso, Machado e Três Pontas) e Vales do Jequitinhonha e Mucuri (Aricanduva), e apresenta adaptação às principais regiões cafeeiras de Minas Gerais e

ainda outros estados brasileiros aptos à espécie *Coffea arabica*.

Biotechnologia

Como exemplos dos resultados obtidos a partir de pesquisas vinculadas ao INCT do Café, podemos também citar os estudos desenvolvidos na linha de pesquisa em “Cultura de Tecidos, Clonagem e Transformação Genética”. Esta linha tem como objetivo geral o desenvolvimento de protocolos de cultura de tecidos para a obtenção de novas

cultivares de café por meio da biotecnologia. Sob a liderança do Prof. Dr. Luciano Vilela Paiva, o grupo conta com a participação de pesquisadores da UFLA, Embrapa Café, IAC e IAPAR. Esse grupo de pesquisas realizou recentemente em parceria com o CIRAD, o silenciamento do gene *PDS* (fitoeno dessaturase), va-

lidando o sistema CRISPR/*Cas9* em *Coffea canephora*. O gene *PDS* está relacionado à síntese de carotenoides, e seu silenciamento leva à produção de plantas albinas, permitindo a fácil identificação de mutantes (Figura 3).

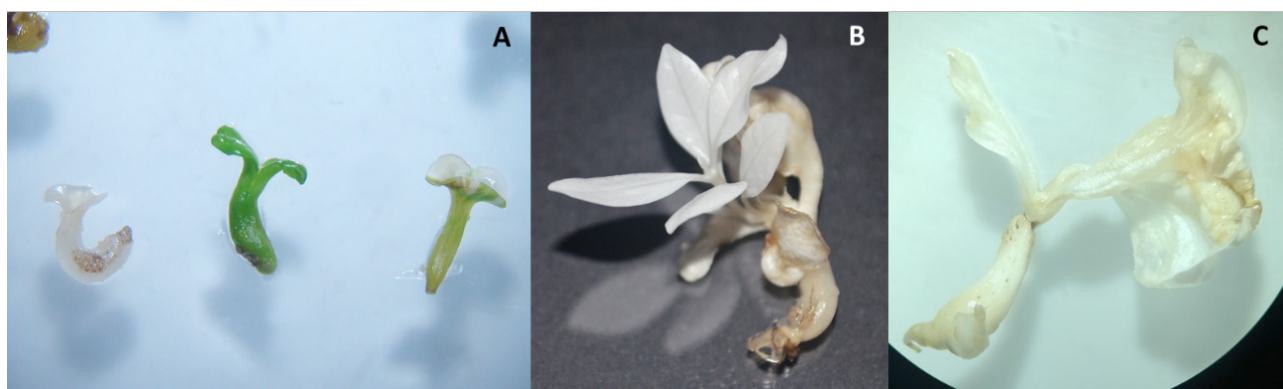


Figura 3. Variações fenotípicas obtidas após transformação de calos embriogênicos com a construção Cc-PDS. A: embrião sem pigmentação (albinas), com pigmentação verde (fenótipo normal) e parcialmente verde (plantas quiméricas). B e C: plantas mais desenvolvidas sem pigmentação (albinas).

A técnica de edição gênica via CRISPR/*Cas9* permite alterar pequenas regiões no genoma da planta, sem inserir genes de outras espécies, portanto, as plantas obtidas não são transgênicas. Dessa forma, é possível alterar regiões específicas do DNA vegetal, e possivelmente silenciar genes que confirmam características indesejadas. A validação desta técnica em *C. canephora*, em conjunto com os novos protocolos de cultura de tecidos obtidos, representam grande avanço tecnológico para a o melhoramento genético do cafeeiro. Tais avanços biotecnológicos integrados ao

melhoramento clássico, seguramente resultarão na obtenção rápida de novas cultivares que combinem diversas características de interesse agrônomo. A inativação do gene *PDS* foi utilizada apenas para verificar se a edição genômica pontual pode também ser aplicável à cultura do café, ou seja, foi uma prova de conceito. Entretanto, outras pesquisas de interesse do setor estão sendo abordadas. Atualmente, esforços estão sendo concentrados com o objetivo de produzir plantas descafeinadas ou que produzem baixo teor de cafeína nos grãos. Para tal, genes que codificam enzimas específicas da rota meta-

bólica para produção da cafeína estão sendo usados como alvos para edição genômica.

Novos produtos

A linha de pesquisa denominada “Desenvolvimento de produtos inovadores para a cultura do café e indústria” conta com a participação da EPAMIG, UFLA e COOXUPÉ (Cooperativa Regional de Cafeicultores em Guaxupé Ltda). O principal objetivo desta linha de pesquisa corresponde à obtenção de produtos inovadores para a cadeia produtiva do café, que resultem em maior sustentabilidade, melhoria da qualidade do produto final e consequente agregação de valor à cadeia produtiva. No intuito de desenvolver produtos de valor agregado à base de subprodutos e resíduos da indústria cafeeira, pesquisadores realizaram a fermentação de polpa de café e grãos defeituosos para produção de etanol, voláteis aromáticos e compostos bioativos.

O volume de subprodutos produzidos ao longo do processamento e consumo do café tem se tornado uma preocupação devido ao impacto desses subprodutos no ambiente, o que requer um plano de gestão compatível à produção atual. A utilização dos subprodutos da indústria de café no contexto de biorefinaria representa uma alternativa interessante para agregação de

valor e sustentabilidade à cadeia produtiva do café, pois subprodutos de baixo ou nenhum valor agregado podem ser convertidos “em cascata” em diversos coprodutos de elevado valor comercial. Neste contexto, temos o exemplo da fermentação da mistura de casca/polpa e água do processamento de café que resultou em um alto rendimento de etanol e alta eficiência de conversão de açúcares. Esta fermentação resultou também na produção de compostos voláteis como álcoois su-



periores, acetatos, terpenos, aldeídos e ácidos voláteis em quantidade e diversidade interessantes para indústria, por exemplo, de perfumaria, cosméticos e bebidas. Recentemente, com a fermentação da casca e a polpa do café sob condições otimizadas para produção de bebida destilada (Figura 4), obtivemos uma aguardente com composição de mais de 40 compostos voláteis aromáticos e com notas aromáticas típicas de café verde. Já a bebida destilada produzida a partir da fermentação de

grãos defeituosos (verdes, pretos e ardidos) apresentou-se dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para aguardentes. Os trabalhos de desenvolvimento de bebidas destiladas à base de subprodutos do café têm sido realizados em parceria com pesquisadora do *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, Espanha.

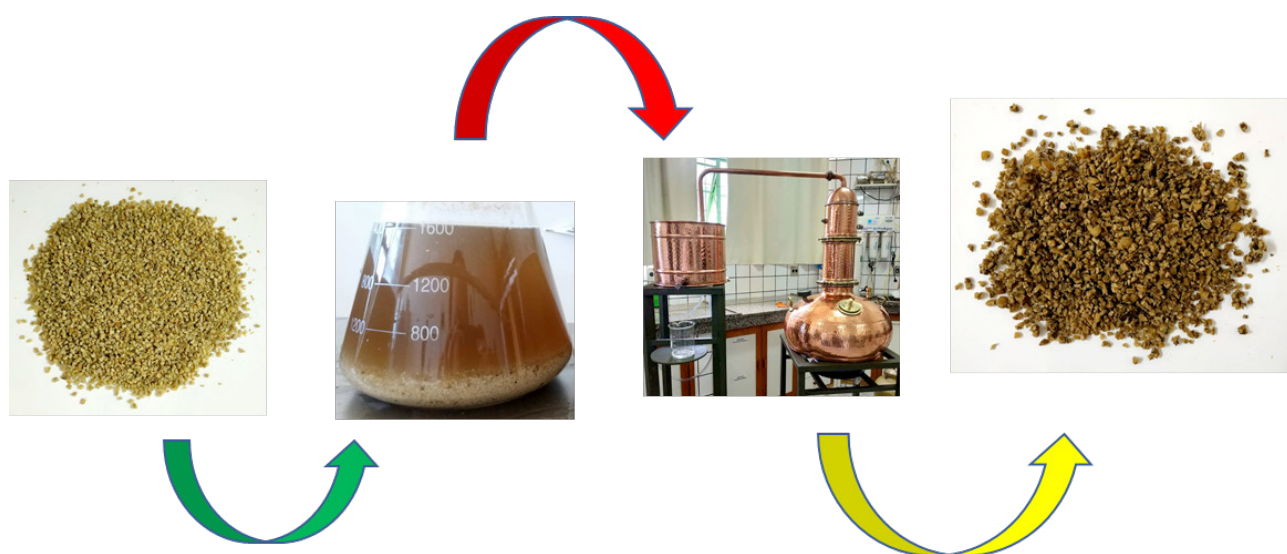


Figura 4. Fluxo de transformação de subprodutos do café via fermentação e destilação.

Dentre os bioativos presentes no café, o ácido clorogênico é um dos mais abundantes representando de 6% a 10% (peso seco) do grão e, cujo valor comercial chega a US\$ 50,00 g⁻¹. O elevado poder antioxidante deste composto tem atraído o interesse da indústria para a utiliza-

ção do café como fonte desta molécula. A biomassa de café após extração do óleo na Cooxupé, foi utilizada neste trabalho como fonte de ácido clorogênico. Quando extraído de café arábica, foram obtidos 35 g de ácido clorogênico por kg de café, cerca de 10 g a menos que o obtido a partir da biomassa de café cujo

óleo foi removido previamente à extração do ácido.

Os subprodutos da indústria de café apresentam potencial ainda pouco explorado. Este potencial pode ser convertido em produtos, conforme descrito acima, que podem ser empregados nas indústrias como de alimentos/bebidas, cosméticos/perfumaria agregando valor à cadeia produtiva do café.

Perspectivas

O conhecimento gerado pelo INCT do Café tem promovido vantagens competitivas para o setor cafeeiro, focando-se em inovação e articulação. O INCT do Café também investe na formação de recursos humanos especializados para a cafeicultura, principalmente no que se refere à biotecnologia e suas aplicações, tendo treinado estudantes de pós-graduação e pós-doutores em centros de excelência no exterior. As publicações científicas, bem como os produtos gerados a partir de tais pesquisas, divulgam nacional e internacionalmente, a excelência da pesquisa cafeeira realizada no Brasil. Para saber mais sobre o INCT do Café, acesse www.inctcafe.ufla.br.

Referências

PORTO, B. N.; CAIXETA, E. T.; MATHIONI, S. M.; VIDIGAL, P. M. P.; ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; DONOFRIO, N.; POLSON, S. W.; MAIA, T. A.; CHEN, C.; ADETUNJI, M.; KINGHAM, B.; DALIO, R. J. D.; RESENDE, M. L. V. de. Genome sequencing and transcript analysis of *Hemileia vastatrix* reveal expression dynamics of candidate effectors dependent on host compatibility. PLOS ONE, San Francisco, vol. 14, n. 4, e0215598, abr. 2019.





Estratégias biotecnológicas e genômicas no melhoramento do cafeeiro

Oliveiro Guerreiro-Filho¹

Lilian Padilha¹

Mirian Perez Maluf¹

Lucas Mateus Rivero Rodrigues¹

Introdução

Melhoramento do cafeeiro no Instituto Agrônômico

A cafeicultura brasileira é reconhecidamente um modelo de eficiência.

Em 2020, o país deve produzir cerca de 60 milhões de sacas de café beneficiado, sendo aproximadamente 75% deste montante, proveniente de cafés do tipo arábica. Uma das mais importantes variáveis nesta equação é a diversidade de cultivares adaptadas às mais diversas condições edafoclimáticas que caracterizam nossas regiões produtoras. Há em 2020, 132 cultivares com características diversas registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 67 delas, lançadas pelo IAC (Figura 1).

¹ IAC - Centro de Pesquisa de Café "Alcides Carvalho", Campinas (SP). oliveiro@iac.sp.gov.br

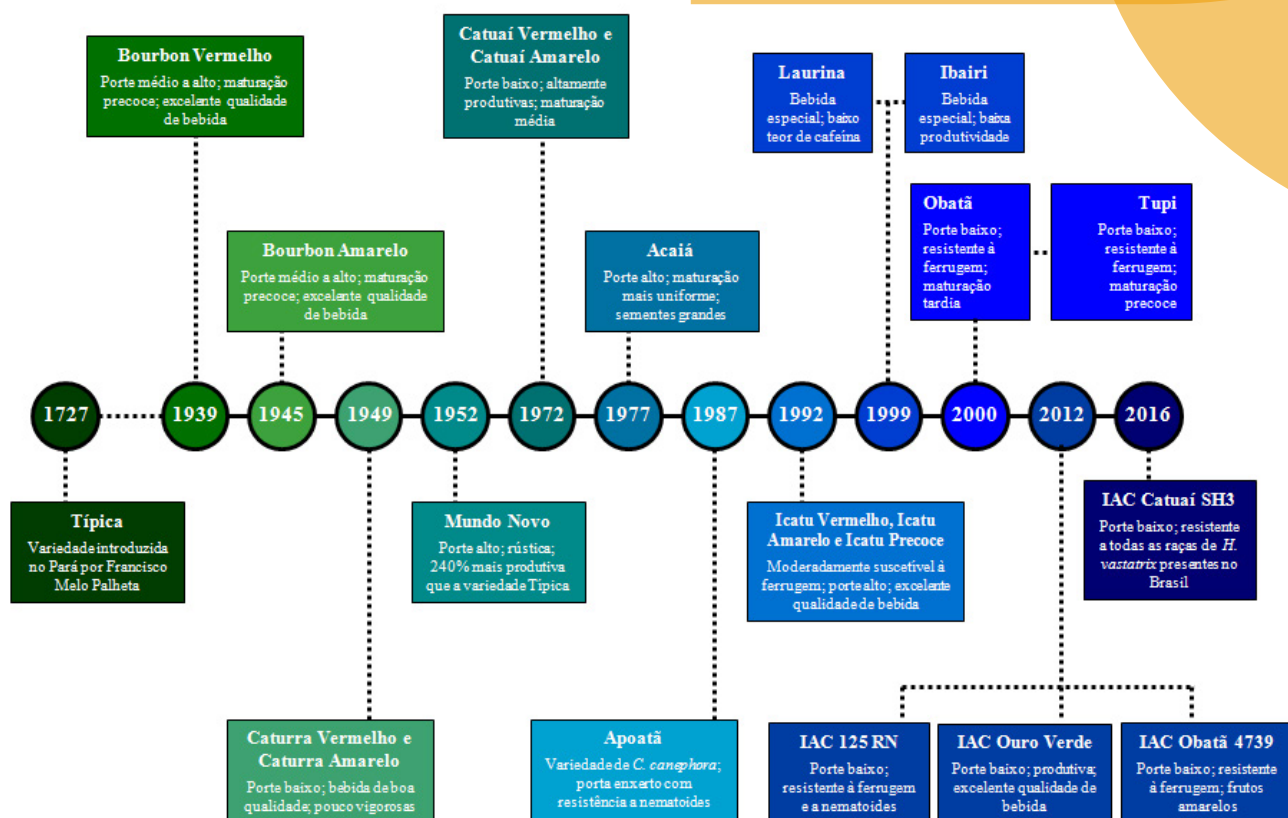


Figura 1. Cultivares de café arábica lançadas pelo Instituto Agrônomo e registradas no Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O estabelecimento e a eficaz gestão de uma valiosa coleção de recursos genéticos e a continuidade das pesquisas de um programa de seleção varietal, elaborado pela instituição no início dos anos 30, foram fundamentais para a obtenção da quase totalidade

das cultivares nacionais. Cultivares bem mais produtivas do que a variedade Típica, introduzida e cultivada sem seleção no país, foram disponibilizadas em um curto período de vinte anos, com ganhos extraordinários na capacidade produtiva das plantas (Figura 2).

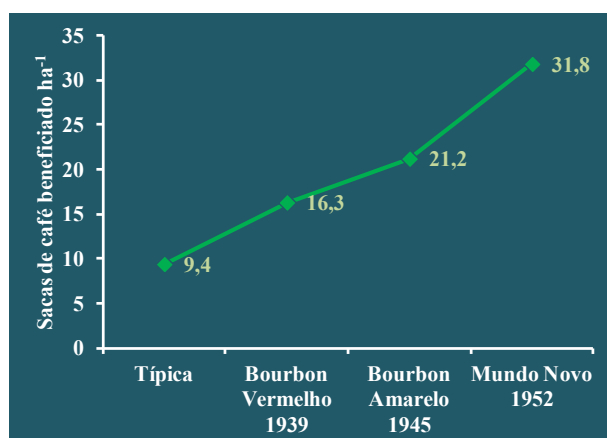


Figura 2. Aumento no potencial de produtividade - média de seis a oito anos - de cultivares brasileiras de café arábica lançadas entre 1932 e 1952. Fonte: Carvalho (1965).

Lançadas 20 anos depois, as seleções de Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo, são exemplos ainda atuais de inovações tecnológicas que revolucionaram a cafeicultura brasileira. As altas produtividades aliadas ao porte baixo e à arquitetura compacta das plantas tiveram impacto direto na densidade de plantio, no manejo e condução das lavouras e, especialmente, na redução do custo de produção, proporcionada pela maior facilidade de colheitas das plantas.

Entre as pesquisas básicas relacionadas à herança de caracteres das plantas destacam-se os estudos sobre a resistência do cafeeiro à ferrugem que tiveram início 20 anos antes da constatação do agente causador da doença, no Brasil e também aqueles referentes aos nematoides, praga disseminada por cafezais de todo país. Estas pesquisas

permitiram o lançamento do único porta-enxerto recomendado para cultivares suscetíveis a nematoides e de uma série de cultivares resistentes à ferrugem como Icatu, Obatã IAC 1669-20, Tupi IAC 1669-33, IAC Obatã 4739, IAC 125 RN e IAC Catuaí SH3. Estas duas últimas (Figura 3) são resistentes às 17 raças do fungo atualmente identificadas no Brasil e, respectivamente, resistente aos nematoides *Meloidogyne exigua* raças 1 e 2 e *M. incognita* raça 1 e tolerante ao déficit hídrico. Deve-se ressaltar o aumento contínuo no potencial produtivo das novas cultivares. Em 2019, em um concurso regional no Cerrado Mineiro, um produtor obteve prêmio de produtividade, na categoria 'irrigado safra anual', produzindo pouco mais de 160 sacas de café por hectare com a cultivar IAC 125 RN.



Figura 3. Cultivares IAC 125 RN - resistente à ferrugem e a nematoides (A) e IAC Catuaí SH3 - resistente à ferrugem e tolerante ao déficit hídrico (B).

Atualmente, uma importante vertente das pesquisas institucionais se dirige à agregação de valor, especialmente pelo aporte de qualidade ao produto, por meio da seleção de cultivares produtoras de cafés com características físicas, sensoriais e químicas, como a ausência quase completa de cafeína nos grãos. Embora ganhos expressivos

relacionados à eficiência e à qualidade (Figura 4) tenham sido obtidos até o momento pelo uso exclusivo de métodos clássicos de seleção, o Programa de Melhoramento do Cafeeiro do IAC vem utilizando técnicas e estratégias de natureza molecular visando maior eficácia no alcance de seus objetivos.

Ganhos	Mecanismo	Característica
Eficiência	Redução do custo de produção	Potencial produtivo Porte e arquitetura Resistência a pragas e doenças Tolerância ao déficit hídrico
Qualidade	Agregação de valor ao produto	Ciclo de maturação dos frutos Perfil sensorial Características físicas e químicas dos grãos Teor reduzido de cafeína

Figura 4. Características de cultivares de café selecionadas pelo IAC e ganhos relacionados à qualidade ou eficiência proporcionados respectivamente por meio da redução de custos de produção ou pela agregação de valor ao produto.

A associação da biologia molecular ao melhoramento do cafeeiro visa aprofundar o conhecimento dos caracteres genéticos estudados pelos melhoristas. Ela gera informações para subsidiar o processo de seleção de materiais genéticos e desenvolvimento de cultivares, somando a isso a expectativa de redução no tempo de obtenção desses produtos. As informações contidas nas moléculas de DNA e RNA dos acessos, genótipos elites, populações em

seleção, e cultivares de café são traduzidas em marcadores moleculares que irão aumentar o poder de análise genética realizada pelo melhorista. Isso é feito pela associação de marcas moleculares à característica de interesse, determinando o efeito genético sobre essa característica, e tornando desnecessária a estimativa da interferência do ambiente no qual as plantas estão sendo avaliadas. Assim, abre-se a possibilidade de otimização das áreas experimentais, dos recursos financeiros

e humanos dedicados às avaliações no campo. Isso porque o cafeeiro é uma cultura perene, e muitas características que seriam avaliadas ao longo dos anos, em vários locais e nas plantas em produção, poderão ser preditas a partir das marcas observadas no genoma delas.

As metodologias de avaliações genéticas que usam o DNA estão em contínuo aperfeiçoamento, e as formas de manipulação desta molécula progredem a uma velocidade sem precedentes. Dentre os marcadores de DNA, atualmente, os SNP ou “polimorfismo de único nucleotídeo” são os mais explorados pelo Programa de Melhoramento do Cafeeiro do IAC. Os SNP são modificações pontuais e herdáveis nas sequências do DNA, que ocorrem em abundância no genoma, resultam em elevado nível de variabilidade genômica, e sua detecção pode ser facilmente automatizada. Isso se deve à viabilização de análises em larga escala através de técnicas como a GBS ou “genotipagem pelo sequenciamento” que rapidamente sequenciam todo o genoma do cafeeiro. Acompanhando a GBS, grande revolução vem ocorrendo nos métodos de análises genéticas, de bioinformática e de acúmulo e disponibilização de informações em banco de dados. A abundância e o poder discriminatório dos SNP os tornam marcadores estratégicos para serem associados aos métodos de melhoramento da cultura, principalmente,

ao considerarmos a estreita base genética das cultivares de café arábica no Brasil, as quais inicialmente partiram de apenas dois materiais introduzidos - o Típica e o Bourbon.

Além do DNA, também as análises da molécula do mRNA podem fornecer subsídios ao programa de melhoramento na prospecção de genes de interesse. O mRNA é um produto da transcrição de um gene que será traduzido em uma proteína com função específica nas células. Tanto a PCR em tempo real quanto o RNA-Seq (sequenciamento do RNA) são métodos utilizados para detecção da expressão diferencial de genes a partir do mRNA. Na PCR em tempo real, o mRNA de determinado gene de interesse é extraído de plantas submetidas a condições experimentais contrastantes. Esse mRNA passa por um processo de transcrição reversa para obter o cDNA, correspondente ao gene de interesse, que será amplificado e terá o seu número de cópias quantificado. Dessa maneira, pode-se quantificar a expressão do gene nas condições avaliadas. Já no RNA-Seq, o genoma expresso nas condições biológicas experimentais é todo sequenciado em larga escala, a partir de pequenos fragmentos de mRNA e, com o uso de ferramentas de bioinformática, as sequências diferencialmente expressas são anotadas e inúmeros genes são identificados em banco de dados públicos.

Os genes são categorizados em função dos processos que participam e são identificadas as rotas metabólicas das quais participam, estabelecendo assim, sua relação com a resposta às condições estudadas. Num próximo passo, o RT-PCR é utilizado para validar os genes de interesse obtidos a partir do RNA-Seq. A seguir é descrito como as estratégias da biotecnologia e genômica estão associadas a importantes linhas do Programa de Melhoramento do Cafeeiro no Instituto Agrônomo do estado de São Paulo.

Caracterização do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *Coffea* spp.

Os programas de melhoramento dependem diretamente da disponibilidade de populações e acessos de *Coffea* spp. bem caracterizados em relação ao seu potencial para transferência de características de interesse. Apesar do sucesso dos programas de melhoramento, a caracterização desses materiais muitas vezes é realizada de forma pontual, limitada apenas aos genótipos de maior interesse conhecidos como materiais elite, e após sua obtenção, a informação nem sempre será integrada a outros dados ou estará prontamente disponível a toda equipe do melhoramento. Deve ser considerado também que *C. arabica*, a principal espécie comercial do gênero, apresenta base genética estreita

limitando muito o alcance da avaliação da diversidade genética entre os genótipos elite. Neste contexto, abordagens genômicas que utilizam informações da GBS e RNA-Seq estão sendo integradas aos métodos tradicionais de fenotipagem para a caracterização do BAG Café. Essas novas plataformas para sequenciamento de alto desempenho, associadas à bioinformática, permitem a automatização da detecção e análise dos marcadores SNP, reduzindo o uso intensivo de mão de obra que tem sido considerada um dos grandes gargalos encontrados nas instituições públicas responsáveis pelo estudo e gestão dos recursos genéticos.

Seleção assistida de cafeeiro descafeinado através de marcador SNP

O IAC incorporou em seu programa de melhoramento o estudo genético de café sem cafeína com base em uma ampla triagem, baseada em análises químicas, dos acessos originalmente provenientes da Etiópia, com variações no teor de cafeína no grão do BAG de *Coffea* spp. Foram identificadas a partir de três plantas com reduzido teor de cafeína no endosperma, teores vinte vezes abaixo do normal de cafeína em café arábica, que é de 1,2%. O processo para transferir essa característica para outros cultivares é longo e oneroso. Com o auxílio de análises de

expressão diferencial de genes, foi possível observar que aqueles que codificavam as enzimas da via de biossíntese de cafeína eram menos expressos ao longo do desenvolvimento de frutos em

comparação com o acúmulo observado em cultivares com teores de cafeína regulares (Figura 5).

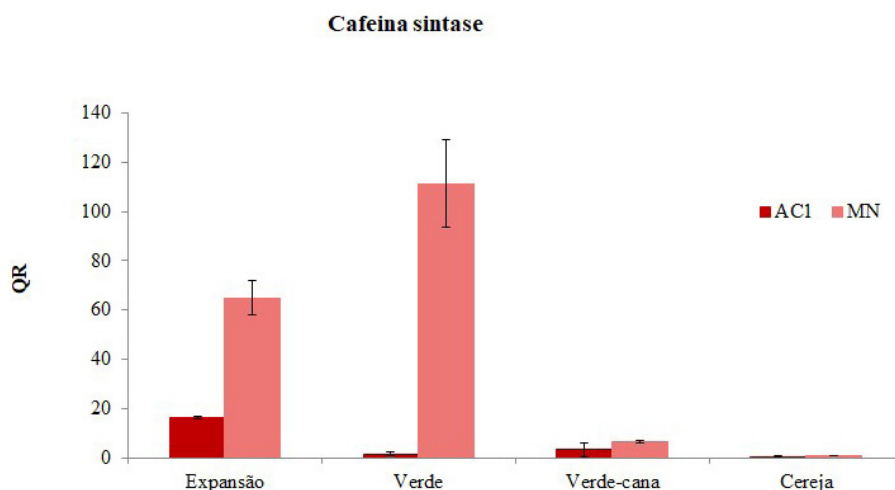


Figura 5. Variação no perfil de expressão do gene cafeína sintase ao longo da maturação de frutos da cultivar Mundo Novo (MN) e do acesso sem cafeína (AC).

A partir de comparações entre as sequências genômicas do gene *cafeína sintase* (*cs*) de plantas normais da cultivar Mundo Novo e do material sem cafeína detectamos a ocorrência de SNPs em domínios proteicos, incluindo um que resulta na substituição de um aminoácido valina por isoleucina no sítio ativo da enzima. Análises de segregação mostraram uma associação significativa entre a presença de três SNPs e a redução do teor de cafeína. Esses SNPs são atualmente utilizados como marcadores para a seleção-assistida de plantas sem cafeína pelo Programa de Melhoramento do Cafeeiro do IAC (Patente BR1020130323179).

Sua utilização permite que apenas as plantas que possuem as marcas de interesse sejam levadas a campo para serem avaliadas no melhoramento do café sem cafeína. O uso destes marcadores na seleção-assistida já é uma realidade no Programa de Melhoramento do Cafeeiro do IAC, e gerações avançadas de cruzamentos com teores de cafeína reduzidos estão em avaliações em campos experimentais.

Uma questão a ser considerada para o desenvolvimento de cultivares sem cafeína é como a falta deste composto afeta a planta como um todo, em especial, seu desempenho agrônômico. Com isto em mente, fizemos um estudo

utilizando a metodologia de RNA-Seq, para caracterização da expressão diferencial de genes em plantas com teor reduzido de cafeína. Estas análises permitiram a identificação de rotas metabólicas afetadas pela ausência de cafeína. Os resultados são bastante animadores, uma vez que poucos genes envolvidos em rotas essenciais apresentaram diferenças no perfil de expressão.

Identificação de cultivares e rastreabilidade de cafés especiais

Segundo o Conselho dos Exportadores de Café do Brasil (CECAFÉ), em 2019 o país gerou uma receita cambial de US\$ 1,2 bi com a exportação de 7,5 milhões de sacas de cafés diferenciados, aqueles com qualidade superior ou algum tipo de certificado de práticas sustentáveis. Além da origem, da sustentabilidade na produção e da avaliação dos cafés diferenciados quanto aos aspectos físicos e sensoriais, a rastreabilidade da produção é uma das principais exigências para a certificação do produto. Numa parceria entre o IAC e Embrapa Café, trabalhos foram focados no desenvolvimento de marcadores SNP, identificados em análises de genotipagem pelo sequenciamento (GBS), voltados à caracterização de cultivares comerciais e de uma coleção de Bourbons. Esses últimos são considerados materiais superiores para a produção de cafés de elevada qualidade de bebida. Já

foram identificados SNP que diferenciam grupos de cultivares de *C. arabica* em relação à uma coleção de Bourbons. Esses SNPs foram anotados e estão sendo validados para confirmar seu potencial para análises de pureza varietal e genética de amostras de grãos torrados de cultivares. Métodos de extração de DNA estão sendo otimizados em laboratório. A utilização de técnicas avançadas de sequenciamento e identificação de marcas no genoma de cultivares com qualidade sensoriais elevadas irá contribuir para a certificação do uso dessas no mercado de cafés especiais, permitindo a garantia da genética das cultivares envolvidas na cadeia de negócios do café. Este trabalho visa alcançar os setores envolvidos com a obtenção de cultivares, produtores agrícolas, exportadores e indústria de processamento dos grãos.

Investigação dos genes de defesa contra a bactéria da mancha-aureolada

A incidência da mancha-aureolada, doença de etiologia bacteriana, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* é fator limitante à formação de cafezais em regiões propícias ao desenvolvimento do patógeno e com alto potencial de inoculo. A manifestação da doença ocorre na forma de lesões irregulares, de coloração marrom escura e aspecto translúcido/encharcado com halo amarelado ao redor, em

decorrência de compostos tóxicos excretados pela bactéria que causam a transformação do tecido vegetal utilizado como substrato para sua multiplicação. A bactéria tem a capacidade de invadir o sistema vascular da planta, podendo ocasionar a morte da mesma.

O processo de seleção de cultivares resistentes à doença por métodos tradicionais de melhoramento, por meio de hibridações e seleção, pode se estender por mais de 20 anos. Com intuito de reduzir este período, o IAC em parceria com a FIOCRUZ e a Embrapa Café, Informática Agropecuária e Tabuleiros Costeiros - associou ao Programa de Melhoramento do Cafeeiro, análises de transcriptoma pela técnica de RNA-Seq, procurando desvendar os mecanismos de resistência das plantas à bactéria e desenvolver uma técnica molecular segura visando à seleção de cafeeiros resistentes, em larga escala. Após a triagem de milhares de genes potencialmente associados à resistência das plantas, alguns deles vêm sendo intensamente investigados em relação à participação do metabolismo de defesa das plantas e ao uso potencial em um processo de seleção assistida de cafeeiros resistentes. Entre estes, encontram-se genes ligados ao estresse oxidativo, transportadores de potássio e de fator de transcrição responsivo ao etileno.

Todos estes genes podem estar associados à indução da resposta de defesa dependente da sinalização por fitormônios.

Caracterização de mecanismos de resistência ao bicho-mineiro

Considerada a principal praga do cafeeiro, o bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) aparece em todas as regiões produtoras de café do país. As lesões causadas pelo bicho-mineiro entre as epidermes, também denominadas galerias ou minas, têm bordos irregulares, são de coloração amarelo pálido e posteriormente tornam-se pardacentas. Todo germoplasma de *C. arabica* avaliado até o presente é altamente suscetível ao bicho-mineiro. Um dos objetivos do Programa de Melhoramento de Cafeeiro do IAC é o desenvolvimento de cultivar de *C. arabica* resistente a essa praga visando a sustentabilidade econômica e ambiental da produção do café. Para que isto se torne realidade, estudos sobre os mecanismos de resistência ao bicho-mineiro em cafeeiros estão em andamento, inclusive utilizando análises de expressão de genes em larga escala. Em um estudo pioneiro em parceria com a Embrapa Café caracterizamos a expressão diferencial de genes ao longo do ciclo de infestação do inseto em plantas resistentes e suscetíveis. Um total de 2.137 genes foram identificados com expressão diferencial, associados em sua maioria com processos do metabolismo primário das plantas e regulação de processos celulares. Também identificamos 10 vias metabólicas contendo genes com perfil de expressão diferencial entre plantas resistentes

e suscetíveis. Entre estas vias, selecionamos 3 para identificação de genes com SNPs: ciclos do citrato (Figura 6) e do ácido linoleico, e metabolismo de fenilpropanoides. Atualmente, estamos

avaliando SNPs em genes destas vias como candidatos a marcadores para seleção-assistida de cultivares resistentes ao bicho-mineiro.

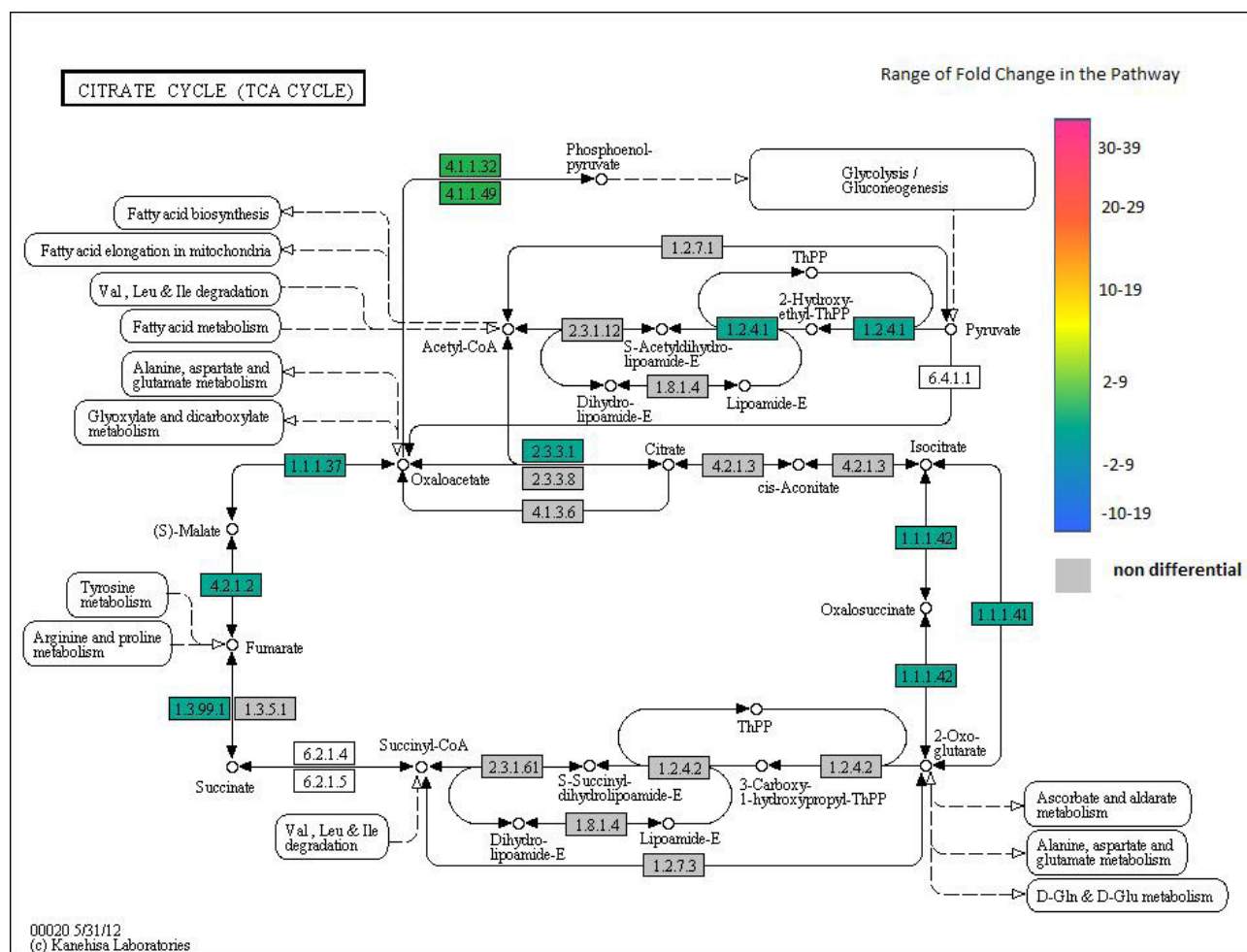


Figura 6. Ciclo do citrato (adaptado de Cardoso et al., 2014), indicando os genes com expressão diferencial entre plantas resistentes e suscetíveis infestadas pelo bicho-mineiro. A escala de cor indica a variação no nível de expressão.

Seleção genômica ampla (SGA) para estresses bióticos e considerações finais

O Programa de Melhoramento do Cafeeiro do IAC conta com populações para seleção de diferentes características

de interesse agrônomo, em especial a resistência a estresses bióticos provocados por bicho-mineiro, nematoides, ferrugem e mancha-aureolada. Aspectos relacionados com a restrita variabilidade genética destas populações, alto custo de

manutenção e avaliação de progênie, o desenvolvimento tardio de características de interesse, a baixa disponibilidade de genótipos contrastantes adequados para estudos genômicos, uma vez que a maioria das populações mantidas se encontra em gerações avançadas de cruzamentos, limitam o desenvolvimento de novas cultivares de café. Neste contexto, o uso de abordagens genômicas integradas aos métodos tradicionais de melhoramento genético e estatística podem elevar a eficiência do processo de seleção e obtenção de novas cultivares.

Com o custo de fenotipagem cada vez mais elevado, a disponibilidade de dados genômicos com ampla cobertura dos genótipos favorece o desenvolvimento da chamada seleção genômica ampla, ou SGA. Na SGA há uma mudança no paradigma de seleção, e o instrumento principal é o polimorfismo genômico ao invés da análise fenotípica tradicional. Esta inversão é viabilizada por modelos estatísticos preditivos, desenvolvidos a partir da análise conjunta de dados de genotipagem e fenotipagem em larga-escala de populações estabelecidas para este fim. Para obtenção de dados de genotipagem em larga-escala estão sendo utilizadas estratégias com RNA-Seq e GBS. Para iniciar a integração da estratégia de SGA ao programa de melhoramento foi escolhido o bicho-mineiro como problema modelo a ser

estudado. Em experimentos realizados com populações avançadas no processo de seleção de materiais genéticos com resistência variável ao bicho-mineiro, a SGA tem se mostrado promissora na identificação de associações de SNP com a resistência ao bicho-mineiro.

Com resultados iniciais significativos para a associação de marcadores à resistência ao bicho-mineiro, a estratégia de desenvolvimento de modelos preditivos para seleção genômica ampla de cultivares com resistência a estresses bióticos é a maior e mais atual aposta para o aumento da eficácia do programa de melhoramento clássico do cafeeiro.

Referências

CARDOSO, D.C.; MARTINATI, J.C.; GIACHETTO, P.F.; VIDAL, R.O.; CARAZZOLLE, M.F.; PADILHA, L.; GUERREIRO-FILHO, O.; MALUF, M.P. Large-scale analysis of differential gene expression in coffee genotypes resistant and susceptible to leaf miner-toward the identification of candidate genes for marker assisted-selection. *BMC Genomics*, v. 15, p. 1-20, 2014.

CARVALHO, A. Genética e melhoramento do cafeeiro. *Ciência e Cultura*, v.17, n. 4, p. 549-554, 1965.



Cafés especiais - qualidade diferenciada

Gerson Silva Giomo¹

Introdução

O consumo de cafés especiais vem crescendo mundialmente em proporções bem maiores que o consumo de variedades comuns, indicando a preferência dos consumidores por um produto de melhor qualidade. Também notam-se mudanças nos hábitos de consumo, frequentemente associadas a uma maior oferta dessa bebida em locais que oferecem uma gama variada de tipos e de métodos de extração com o intuito de despertar o interesse e a percepção sensorial, incrementando o consumo de cafés especiais.

A produção de cafés especiais vem se tornando cada vez mais um tema de grande relevância no Brasil, envolvendo inúmeros setores da cadeia produtiva. A diferenciação pela qualidade constitui

uma das principais portas de entrada nesse competitivo mercado; por isso cafeicultores brasileiros vêm implementando diversas mudanças nos processos produtivos visando aprimorar a produção para atender à demanda mundial. Por isso, nota-se uma intensificação de atividades de pesquisa que buscam alternativas tecnológicas para respaldar a produção de cafés especiais com elevada qualidade sensorial e, dentre os assuntos mais demandados, destacam-se o interesse pelo uso de variedades diferenciadas e por técnicas de processamento pós-colheita que favoreçam a produção de um produto diferenciado.

Atento às demandas do setor produtivo e sabendo que a qualidade do café é influenciada por diversos fatores nas diferentes etapas de produção, o Instituto Agrônomo (IAC) criou, em

¹ IAC - Centro de Pesquisa de Café "Alcides Carvalho", Campinas (SP). gsgiomo@iac.sp.gov.br

2011, o Programa de Cafés Especiais do IAC exclusivamente dedicado aos estudos sobre a produção, com ênfase na avaliação do desempenho agrônomo e tecnológico de variedades de cafeeiro e ampliação do conhecimento sobre os principais impactos dos sistemas de produção e do processamento pós-colheita na qualidade dessa bebida. Nesse contexto, será feita uma abordagem sobre alguns fatores determinantes da qualidade e tendências na produção de cafés especiais, bem como a inserção da pesquisa técnico-científica desenvolvida pelo IAC neste segmento.

Qualidade do café

Qualidade do café é um termo bastante amplo e complexo pois, além da qualidade intrínseca dos grãos, envolve também outros fatores coadjuvantes, tais como a forma de preparo, variedades cultivadas e sistemas de produção, dentre outros, que afetam direta ou indiretamente a qualidade. Ainda que o aspecto físico dos grãos de café, principalmente relacionado ao tamanho, cor, densidade e aparência, seja um fator relevante na determinação da qualidade, a definição de preço de um café especial no mercado é bastante influenciada pela qualidade sensorial da bebida.

A qualidade da bebida do café depende essencialmente da presença e equilíbrio de determinados compostos

químicos (precursores) armazenados nos grãos crus durante o desenvolvimento dos frutos que, após o processo de torra, manifestam-se em propriedades organolépticas desejáveis, imprimindo ao café perfis sensoriais distintos, com sabores e aromas característicos. A composição química do endosperma, a integridade física e aspectos fisiológicos dos grãos constituem os principais componentes da "qualidade intrínseca" do grão, por isso é importante que a qualidade global do café seja avaliada primeiramente com base nas características dos grãos crus, considerando-se atributos físicos e químicos e, posteriormente, sensoriais dos grãos torrados, a partir de métodos apropriados para que a qualidade do café não seja confundida com as preferências do mercado, do degustador ou do consumidor.

Cafés especiais

De modo geral, um café especial se diferencia de um café comum essencialmente pela melhor qualidade da bebida, ou seja, o componente sensorial assume maior relevância para determinar se um café é especial ou não. O conceito de cafés especiais está diretamente ligado ao prazer que a bebida pode proporcionar ao consumidor por meio de algum atributo sensorial específico resultante da qualidade intrínseca dos grãos, varietais específicos e técnicas de produção dessa bebida.

Para ser considerado especial um café tem que apresentar bebida suave, sem adstringência, elevada doçura, acidez equilibrada e retrogosto agradável, sendo desejável também nuances de sabor e/ou aroma lembrando frutas, flores, caramelo, chocolate, mel, nozes, baunilha, ou especiarias, dentre outros. Além disso, não pode apresentar quaisquer características sensoriais negativas ou sabores estranhos, durante ou após a degustação.

Segundo a *Specialty Coffee Association* (SCA), cafés especiais são

aqueles que apresentam nota sensorial acima de 80 pontos em uma escala específica de avaliação da qualidade da bebida. Além disso, devem possuir elevado potencial de expressão de aroma e sabor após a torra, sendo desejável um caráter sensorial notavelmente distinto e agradável ao paladar. Quanto mais intensos forem os atributos sensoriais positivos observados, maior será a nota do café, podendo ser classificados em quatro categorias básicas, dependendo da qualidade global, conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Descrição de notas sensoriais e principais características da bebida do café, conforme definições da SCA e COB

Nota SCA	Descrição sensorial	Classificação
Acima de 90 pontos	Representa o grau máximo da qualidade de bebida. Equivalente a um café com bebida estritamente mole da COB, porém com maior suavidade e sabor e aroma diferenciados	Café especial raro, exemplar
85 a 89,99 pontos	Equivalente a um café com bebida estritamente mole, da COB	Café especial de origem, excelente
80 e 84,99 pontos	Equivalente a um café com bebida mole, da COB	Café especial, muito bom
Abaixo de 80 pontos	Equivalente a um café com bebida apenas mole, dura ou inferior, da COB	Café não especial

De acordo com a classificação internacional proposta pelo *Coffee Quality Institute* (CQI/USA), denominada "Q-Coffee System" e que se baseia na avaliação física dos grãos crus e torrados e na avaliação sensorial

da bebida, o café pode ser classificado em três categorias:

a) Café especial: café sem defeito primário, no máximo cinco defeitos secundários, nenhum grão deteriorado do tipo *quaker* e nota sensorial acima de 85 pontos SCA;

b) Café premium: café com no máximo oito defeitos (primários e/ou secundários), no máximo três grãos deteriorados do tipo *quaker* e nota sensorial entre 80 e 85 pontos SCA;

c) Café sem classificação: café com mais de oito defeitos (primários e/ou secundários), acima de três grãos deteriorados do tipo *quaker* e nota sensorial inferior a 80 pontos SCA.

No Brasil, cafés especiais são aqueles classificados como cafés de “bebida mole” ou “estritamente mole”, conforme descrito na Classificação Oficial Brasileira de Café (COB). A qualidade sensorial e a complexidade da bebida são certamente dois grandes diferenciais de um café especial, o qual é tanto mais valorizado quanto mais raro e agradável for ao paladar do consumidor. Esse é o caso dos cafés com qualidade sensorial excepcional, com notas acima de 90 pontos, que na prática constituem microlotes de cafés especiais, aliando qualidade sensorial única com quantidade limitada de produção, o que os tornam altamente valorizados no mercado. Considerando as características naturais do cafeeiro arábica é importante ressaltar que, independente do sistema de produção, qualquer café com nota sensorial abaixo de 80 pontos na escala da SCA ou inferior a “bebida mole”, na escala COB, é considerado uma anormalidade para a espécie *Coffea arabica* L.

Fatores determinantes da qualidade do café

Não é tarefa fácil falar sobre os fatores que afetam a qualidade dessa bebida, pois como visto anteriormente, não existe um único fator, mas sim vários que interagem entre si e ao mesmo tempo na definição da qualidade do café. O ambiente de produção, as condições climáticas e as técnicas de produção, juntamente com as variedades cultivadas e o processamento pós-colheita, constituem os principais fatores determinantes da qualidade dos grãos e da bebida.

Ambiente de produção

O local de cultivo e as características do clima influenciam a qualidade do café em função das interferências no desenvolvimento e maturação dos frutos, na formação dos grãos, na colheita e no processamento pós-colheita. Para cada ambiente de produção, a altitude e a latitude constituem os fatores mais importantes para a diferenciação de regiões cafeeiras, pois exercem influência direta sobre a temperatura atmosférica e o regime de distribuição de chuvas.

Regiões mais altas e com temperatura mais amena podem ser favoráveis para a obtenção de uma maturação mais uniforme e, frequentemente, melhor qualidade de bebida. Em regiões mais quentes há uma tendência de o

ciclo de maturação ser mais curto, sendo menos favorável à boa formação dos grãos e, conseqüentemente, levando à produção de uma bebida com qualidade inferior. Obviamente que é necessário considerar também a latitude para se ter uma informação mais detalhada em cada local de cultivo.

Técnicas de produção, colheita e processamento pós-colheita

Muitas vezes o desconhecimento de técnicas para o manejo da lavoura e para o processamento pós-colheita do café, associado ou não à existência de fatores ambientais ou genéticos restritivos à sua qualidade intrínseca, impede que haja uma produção efetiva de cafés especiais em determinadas regiões do País. São comuns os relatos de que cafés especiais diferenciados que não podem ser produzidos, mas apenas encontrados na natureza. No entanto, tem se verificado que a utilização de técnicas apropriadas de produção e processamento pós-colheita pode permitir a obtenção de cafés de boa qualidade nas mais diversas condições edafoclimáticas, sem ficar na dependência de eventuais fenômenos da natureza que possam favorecer a qualidade.

Considerando que a qualidade do café representa um conjunto de características intrínsecas dos grãos e que estas sofrem interferência direta e/ou indireta

de inúmeros fatores relacionados às plantas (genótipo) e ao local de produção (ambiente), é necessário ter um amplo conhecimento sobre tecnologia de processamento pós-colheita para otimizar a produção de cafés especiais. Sabendo que as técnicas de cultivo e de processamento pós-colheita do café (via seca ou via úmida), em especial a secagem, são fatores determinantes do perfil sensorial da bebida, muitos cafeicultores têm investido na melhoria da infraestrutura de processamento, como construção de terreiros e/ou implantação de secadores para um melhor manejo do café na pós-colheita. Dessa forma, inúmeros cafeicultores que alcançaram elevado grau de desenvolvimento tecnológico já têm conseguido produzir maior quantidade de cafés especiais adotando as orientações técnicas atualmente disponíveis.

Os frutos do cafeeiro arábica, colhidos no auge da maturação (estádio cereja), possuem constituição física, química e fisiológica adequada à obtenção de grãos bem formados que proporcionam qualidade de bebida normal para a espécie. Diversos estudos apontam que a fração de frutos maduros/cereja apresenta menores frequências de grãos defeituosos. Portanto, o estágio cereja é o ponto ideal de maturação para a colheita do café e refere-se ao momento em que o fruto se encontra com sua composição química plenamente

desenvolvida e equilibrada, com o máximo potencial de expressão de qualidade de bebida.

À medida que se afasta desse ponto ideal de maturação, antecipando ou atrasando a colheita, há perdas qualitativas consideráveis devido à presença de grãos do tipo preto, verde, ardido (PVA), decorrentes da colheita de frutos imaturos ou frutos que sofreram algum processo de deterioração no campo ou na pós-colheita. Juntamente com os grãos PVA, grãos danificados por insetos e/ou infectados por microrganismos também apresentam qualidade inferior. Por esse motivo, torna-se importante realizar a colheita seletiva (somente frutos maduros) e a separação de frutos imaturos (verdes e meio verdes) durante o processamento pós-colheita, a fim de aprimorar a qualidade do café.

A maioria dos países produtores de cafés especiais da África e América Central realiza a colheita seletiva, retirando da planta somente frutos completamente maduros, o que proporciona geralmente melhor qualidade aos cafés. O reconhecimento da qualidade intrínseca dos cafés de alguns países justifica os diferenciais de preço pagos pelos cafés do Quênia, Etiópia, Guatemala, El Salvador, Costa Rica, Nicarágua, Honduras e Colômbia, dentre outros, refletindo a maturidade do mercado internacional de cafés especiais, que valorizam e remuneram devidamente os produtos

que de fato apresentam qualidade de bebida diferenciada, com perfil sensorial distinto, principalmente quanto ao sabor, aroma e acidez.

Por outro lado, no Brasil predomina a colheita por derriça com a presença de grande quantidade de frutos verdes, o que requer o uso obrigatório de equipamentos específicos para a separação de frutos imaturos, a fim de minimizar prováveis efeitos negativos na qualidade do café. Como nem sempre é possível colher os frutos no ponto ótimo de maturação ou realizar uma separação efetiva de frutos imaturos, essa modalidade de colheita constitui uma das principais causas da produção de cafés com bebida dura, inferior ao potencial de qualidade do café arábica. Embora já existam inúmeras iniciativas para aprimorar a qualidade do café no Brasil, a maioria dos cafés brasileiros ainda é reconhecida internacionalmente como cafés de qualidade mediana, constituindo matéria prima básica para a composição de *blends* com cafés lavados ou semi-lavados de outras origens.

Interação genótipo x ambiente

Segundo vários autores o fator genético, relacionado à espécie e à variedade de café, é um dos mais importantes na definição da qualidade sensorial. Assim, quando uma cultivar ou variedade possui predisposição

genética para manifestar sabores e aromas distintos, ainda que ocorram variações de intensidade em determinados atributos sensoriais a cada safra, o café continuará sendo reconhecido pelo seu sabor e aroma característico, inerente à própria constituição genética e qualidade intrínseca do varietal. No entanto, deve ser considerado que o efeito genético/varietal é dependente da interação da planta com o ambiente de produção (condições edafoclimáticas).

Considerando que o café arábica é geneticamente condicionado para produzir bebidas normais (bebida mole ou 80 pontos acima), toda produção comercial teoricamente deveria contemplar esse requisito natural da espécie. Quando esse potencial não é alcançado há indícios de que algo errado pode ter ocorrido em alguma etapa da produção, podendo ser tanto algum efeito ambiental negativo como alguma prática incorreta no manejo da lavoura, na colheita ou no processamento pós-colheita do café. Também não pode ser descartada a possibilidade de haver restrição à qualidade sensorial causada pela constituição genética ou adaptação da planta ao ambiente, seja pela presença ou ausência de substâncias que contribuem para a definição do sabor e aroma do café.

Uma determinada cultivar ou variedade pode apresentar qualidade sensorial semelhante

mesmo quando submetida a ambientes distintos. Se isso ocorre, é sinal de que existe um efeito genético preponderante na definição da qualidade, indicando estabilidade genética para determinados atributos sensoriais. No entanto, há situações em que ocorre predominância de outros fatores, favorecendo um comportamento fisiológico diferenciado à cultivar, onde as condições ambientais, o manejo e o processamento podem variar a cada ano, imprimindo características sensoriais diferenciadas ao café. Por isso, é preciso realizar avaliações em várias safras para certificar sobre os principais fatores determinantes da qualidade.

Um estudo realizado na Etiópia, envolvendo a comparação da qualidade de bebida de diversos genótipos de café arábica em três ambientes e três métodos de processamento pós-colheita, indicou que dois dentre os três melhores genótipos apresentaram desempenho qualitativo superior nos três ambientes, independentemente do processamento, constituindo um forte indicativo da predominância do fator genético na definição do sabor e aroma do café. Portanto, a utilização de cultivares diferenciadas, obtidas a partir de uma base genética diversificada e com características sensoriais distintas, pode ser um aspecto bastante relevante para a produção de cafés especiais diferenciados e com perfil sensorial exótico.

No Brasil observa-se que a produção de cafés especiais é ainda muito pequena em relação ao café *commodity* (cerca de 15% da produção brasileira é café especial) e geralmente os perfis sensoriais são muito parecidos, sendo que as diferenças podem estar muito mais condicionadas às interferências ambientais e/ou ao processamento pós-colheita, haja vista que as cultivares comerciais são descendentes de apenas quatro a cinco genótipos distintos. Fazendo referência a uma provável restrição genética das cultivares brasileiras, é importante ressaltar que atualmente existem dois fatos intrigantes na cafeicultura brasileira, os quais precisam ser mais bem compreendidos, pois nota-se, na prática, interesse em se produzir cafés diferenciados e/ou em modificar os perfis sensoriais dos cafés produzidos pelas variedades brasileiras, a partir das seguintes iniciativas:

a) Introdução de variedades importantes: cafeicultores brasileiros estão plantando variedades importadas de outros países, como por exemplo o Geisha do Panamá, Rume Sudan e outros variedades africanos introduzidos a partir da América Central, pois se tem conhecimento de que esses materiais produzem cafés com qualidade diferenciada nos países de origem.

b) Implementação de técnicas de fermentação: no Brasil vem ocorrendo um aumento expressivo de uso de processos

fermentativos no processamento pós-colheita do café, a fim de modificar o perfil sensorial natural da bebida, confirmando alguma restrição natural de qualidade nos processos convencionais.

O Programa de Cafés Especiais do IAC

O Programa de Cafés Especiais do Instituto Agrônomo (IAC) foi estabelecido em 2011 para atender a demanda do setor produtivo. Desde então vem intensificando pesquisas relacionadas ao estudo do desempenho agrônomo e qualitativo de diversos variedades existentes no Banco Ativo de Germoplasma de Cafeeiro do IAC (BAG-Café), focadas na melhoria da qualidade de bebida.

O objetivo do programa é buscar a melhor forma de produzir cafés especiais diferenciados e até mesmo exóticos em diversas regiões do Brasil, a partir da combinação genótipo x ambiente, o que representa uma ótima oportunidade para agregação de valor ao produto. O uso de variedades de cafeeiro inéditas no Brasil tem apresentado resultados surpreendentes nas pesquisas desenvolvidas pelo IAC, em que o perfil sensorial do café é tão diferenciado que as vezes se confunde com o de cafés importados de outros países, como Etiópia, por exemplo, confirmando a importância do efeito varietal/genético na definição de sabores e aromas da bebida.

Diversos experimentos vêm sendo desenvolvidos em condições edafoclimáticas distintas para a avaliação do desempenho agrônomo e tecnológico de diversos genótipos de cafeeiro arábica, incluindo diferentes tipos de Bourbon (Amarelo e Vermelho), diversas variedades importadas e diversas variedades híbridas (variedades clonais). Os resultados preliminares são bastante promissores e poderão, no futuro, dar indicações sobre a seleção e recomendação de cultivares, bem como formas de cultivo e processamento pós-colheita específicas para diferentes condições edafoclimáticas, tendo em vista a produção de cafés especiais diferenciados. Devido à grande diferenciação do perfil sensorial dos cafés produzidos por determinados variedades, alguns já foram classificados por degustadores profissionais como “cafés raros” ou “cafés exóticos”, característica que até então só era naturalmente encontrada em cafés importados.

Outra importante contribuição do Programa de Cafés Especiais do IAC poderá ser a possibilidade de diversificação da qualidade dos cafés brasileiros a partir do uso de variedades específicas, otimizando o uso das melhores combinações genótipo x ambiente para a produção de cafés especiais diferenciados pela qualidade intrínseca natural dos grãos, o que seria bastante vantajoso para o fortalecimento da produção de café com identidade geográfica, conhecido como *terroir*.

Resultados obtidos em Campinas (SP), a 670 metros de altitude, indicaram a possibilidade de cafés especiais com notas acima de 90 pontos na escala da *Specialty Coffee Association* (SCA). Isso pode ser indicativo de que o uso de variedades adaptadas e com potencial genético para expressar melhor qualidade de bebida é mais importante que a altitude do local de produção. Obviamente que é preciso utilizar técnicas apropriadas de manejo de lavoura e de processamento pós-colheita para explorar o potencial genético de cada varietal. Resultados obtidos em experimento desenvolvido no Vale da Gramma Paulista indicaram até o momento a mais alta pontuação em avaliação sensorial, de 95 pontos SCA e perfil sensorial exótico, com nuances raras e quase indescritíveis, na percepção de diversos degustadores que avaliaram os cafés. Um resultado realmente extraordinário em condições brasileiras.

Atualmente o Programa de Cafés Especiais desenvolve pesquisas básicas e aplicadas que visam prioritariamente avanço do conhecimento sobre a produção de cafés especiais diferenciados nas principais regiões produtoras de café no Brasil. Também está apto a prestar serviços técnicos especializados, realizar treinamentos e oferecer assessoria técnico-científica aos diversos segmentos da cadeia produtiva de cafés especiais.



Mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar (MPB): avanços e soluções

Mauro Alexandre Xavier¹
Marcos Guimarães de Andrade Landell¹

Introdução

Mudas pré-brotadas (MPB) é um sistema de multiplicação desenvolvido pelo Instituto Agrônomo (IAC) que disponibilizou para o setor produtivo um novo modelo de plantio de cana-de-açúcar. O sistema se caracteriza pela simplicidade no processo de produção, redução na massa de material de propagação e qualificação das operações envolvidas no plantio. Os benefícios diretos são a melhoria da logística operacional e a qualidade do material de propagação. Indiretamente o sistema contribui para a rápida introdução de novas cultivares em áreas de produção, transferindo e transformando ganho genético em ganho de produtividade agroindustrial. Atualmente é parte integrante

do planejamento dos principais grupos de processamento de cana. Em paralelo são necessárias atualizações constantes no seu processo de produção e forma de utilização. No cenário de compartilhamento de ações e responsabilidades, algumas atualizações são coordenadas pela equipe de pesquisa do Instituto Agrônomo (IAC) e realizadas com a cooperação da iniciativa privada, associação de produtores, cooperativas e outras instituições parceiras. Por se tratar de um sistema de rápida multiplicação, as ações integradas com o usuário permitem alavancar e gerar capilaridade na utilização das tecnologias varietais de cana-de-açúcar do IAC. Nesse sentido o sistema de multiplicação MPB constitui-se em “ferramenta” de agregação e difusão das cultivares originadas

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Cana, Ribeirão Preto (SP). mxavier@iac.sp.gov.br; mlandell@iac.sp.gov.br

do programa de melhoramento. Essa sinergia entre produtos desenvolvidos pelo IAC permite ao produtor estruturar seu sistema de produção a partir de etapas básicas, material de propagação e cultivar.

Avanços e soluções

A partir de 2013, após o Programa Cana IAC divulgar a tecnologia, vários e importantes grupos e unidades de processamento de cana-de-açúcar passaram a estruturar seus núcleos de produção de MPB. A internalização do processo de produção contribuiu de forma fundamental para a difusão da

tecnologia e a produção em escala. Concomitantemente houve por parte do Programa Cana IAC a preocupação em dar acesso à tecnologia aos produtores organizados em associações e cooperativas. Dessa forma foram organizados dezenas de treinamentos e desenvolvidos projetos para capacitar o produtor na produção e uso do MPB. Nesse processo de treinamento e inclusão do produtor, o IAC inovou e desenvolveu o projeto de produção integrada de MPB. Isso possibilitou que produtores que aderiram ao modelo se tornassem multiplicadores devidamente inscritos no RENAME do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Figuras 1 e 2).



Figura 1. Núcleo de produtor: SPINAGRO.



Figura 2. Núcleo de produtor: Agrícola Trevizoli.

Essa iniciativa acabou contribuindo para que o produtor agregasse um novo negócio ao seu portfólio, ampliando renda e aumentando a capilaridade e multiplicação das cultivares do Instituto Agrônômico. Em 2015 as mudas pré-brotadas passaram a ser utilizadas associadas ao método da MEIOSI, método intercalar ocorrendo

simultaneamente. Esse fato permitiu a redução de custos para a implantação de novas áreas, ampliou as taxas de multiplicação e promoveu novos ganhos na logística da operação de plantio. A associação desses métodos tornou-se fundamental para que o setor de produção viabilizasse estratégias de atualização do plantel varietal (Figura 3).



Figura 3. Área de MEIOSI: Fazenda Santa Barbara (MT).

O IAC continua desenvolvendo e atualizando o MPB. A qualidade da muda pré-brotada de cana-de-açúcar inicia-se pelo cuidado no manejo e condução das áreas chamadas de Jardim Clonal e/ou diversas categorias de viveiros a campo (Figura 4). Para a produção de mudas no Brasil existe um conjunto de normas e legislações, cuja competência é atribuída ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Para a produção integral das MPBs são necessárias seis etapas: corte do minirrebolo, tratamento químico, brotação, individualização ou repicagem, aclimação fase 1 e aclimação fase 2. Essas etapas são realizadas em um período estimado de 60 dias e podem ser estratificadas em dois

subgrupos de atividades: brotação e aclimação.

O primeiro subgrupo constitui-se na fase mais crítica do processo, no qual devem ser investidos os maiores detalhamentos e níveis de controle. Essa etapa demanda a utilização de um conjunto de equipamentos e métodos de controles: extração do minirrebolo ou chip, recipiente para tratamento químico e, principalmente, um ambiente controlado para a brotação das gemas da cana-de-açúcar. Para a rápida e eficiente brotação são necessárias condições de controle de temperatura, entre 32 °C a 36 °C, e umidade próxima a 85% (sala de brotação, Figuras 5 e 6).



Figura 4. Jardim Clonal: Agrícola Trevizoli.



Figura 5. Parte externa da sala de brotação do Núcleo de Produção de MPB - IAC.



Figura 6. Parte interna da sala de brotação do Núcleo de Produção de MPB - IAC.

Para a execução dessa etapa, o Centro Avançado de Pesquisa de Cana do IAC procurou inovar, desenvolvendo uma sala de brotação específica,

utilizando como fonte de aquecimento a associação de energia solar, térmica e biomassa (Figura 7).



Figura 7. Painel solar.

Com a utilização da nova estrutura e a introdução dos conceitos de sustentabilidade, o processo de brotação

ganhou eficiência. O perfil de oscilações das temperaturas na sala de brotação foi inferior a 4 °C (Figura 8).

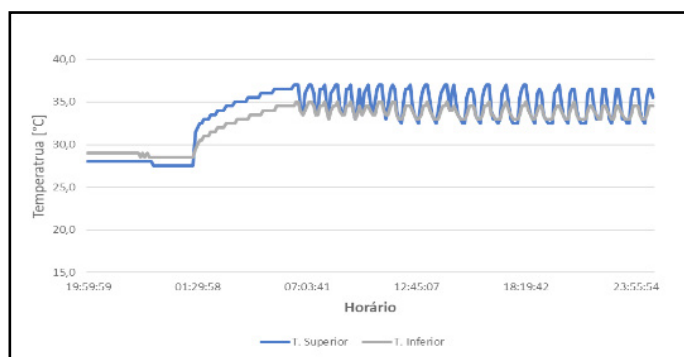


Figura 8. Gráfico de temperatura da sala de brotação.

Esse indicador representa incremento de qualidade ao processo quando comparado à estrutura de brotação tradicional, acima de 15 °C de oscilação (Figura 9). A simples mudança da estrutura de brotação, associada à

fonte de energia possibilitou incrementos de 15% no índice de brotação e redução de até 4 dias no tempo da produção das gemas brotadas, trazendo, portanto, eficácia ao processo parcial ou final para a produção de uma MPB.

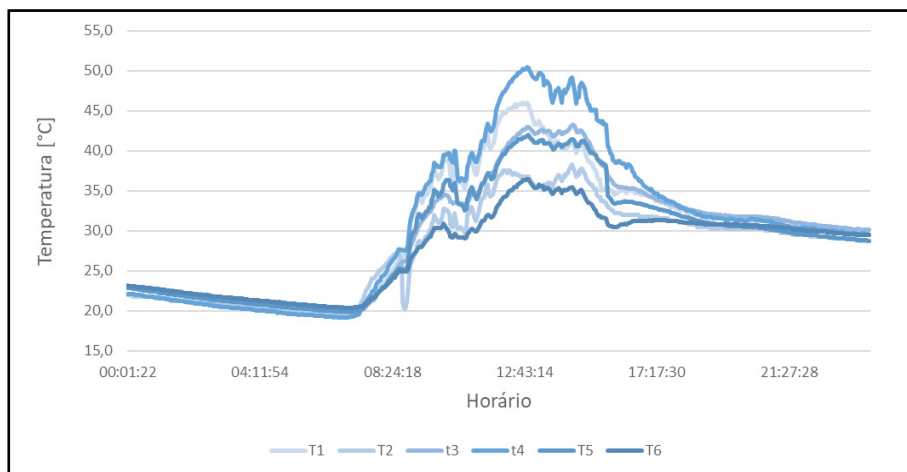


Figura 9. Gráfico de temperatura da estrutura tradicional.

Avanços futuros e considerações finais

Concomitantemente ao desenvolvimento dessa estrutura de produção, a equipe do Programa Cana IAC está avaliando, em fase experimental,

a utilização de material de propagação na forma direta de GEMAS BROTADAS (Figura 10) e sua utilização na linha de plantio para formação de áreas de multiplicação de cana-de-açúcar.



Figura 10. Gema brotada.

Esse estudo procura preservar integralmente a origem, qualidade e autenticidade do material de propagação. Além desses fatores, há a possibilidade de simplificar ainda mais a produção, reduzir custos operacionais, otimizar estruturas e aproximar o sistema de multiplicação de cana-de-açúcar ao modelo de hortaliças. Sobretudo, é possível

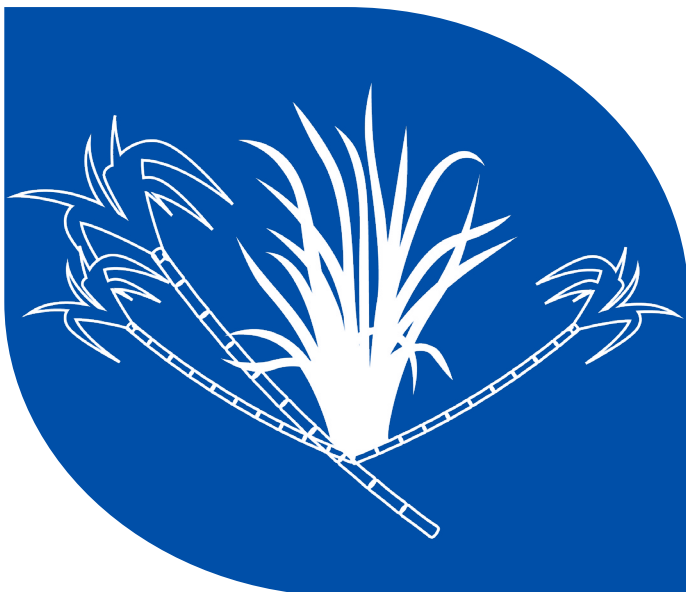
estabelecer um modelo produtivo sustentável e utilização em escalas crescentes. Nesse sentido, estabeleceu-se a área experimental no Centro Avançado de Pesquisa de Cana, em Ribeirão Preto (SP), associando tratamentos com corretivo de acidez, nutrição, irrigação e gema brotada (Figura 11).



Figura 11. Área experimental: gema brotada no Centro Avançado de Pesquisa de Cana, Ribeirão Preto (SP).

O objetivo é utilizar essa área como um *screening test* e despertar a atenção do setor de produção para a possibilidade de inovações com base em rede de experimentação que faça a validação dessa forma reduzida de produção de MPB, gema

brotada. Esse sistema de multiplicação terá como referência a adoção de pacotes tecnológicos, caracterizados por princípios básicos da produção de cana-de-açúcar: cultivares, corretivos e nutrição, irrigação e proteção.



Melhoramento da cana-de-açúcar: seleção de genótipos para ambientes específicos

Marcos Guimarães de Andrade Landell¹
Mauro Alexandre Xavier¹
Maximiliano Salles Scarpari¹

Introdução

O estado de São Paulo é a mais importante região produtora de cana-de-açúcar do Brasil, sendo responsável por 358 milhões de toneladas (53% da produção nacional), 25 milhões de toneladas de açúcar (64%) e 13 bilhões de litros de etanol (48%), gerando cinco bilhões de dólares com a exportação de açúcar e etanol (Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2020). A colheita da cana-de-açúcar na Região Centro-Sul do Brasil, assim como no estado de São Paulo, é realizada no período que compreende os meses de março a dezembro. Este longo período de colheita atravessa três estações do ano,

iniciando-se no outono (abril a junho), passando pelo inverno (julho a setembro) e terminando na primavera (outubro a novembro). Estas três estações têm importante interferência nos parâmetros de qualidade e quantidade de matéria-prima, merecendo ser individualizadas no momento de quantificar déficits e interpretar produtividades.

Programa Cana IAC: história e avanços

O Programa Cana IAC, desde a década de oitenta convive com a estratégia de seleção regional, sendo que a partir de 1993, efetivou sete regiões de seleção no estado de São Paulo. Na década seguinte, ampliou seus pontos de seleção com introdução de *seedlings* em Goianésia, GO (2001) e Luis

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Cana, Ribeirão Preto (SP). mlandell@iac.sp.gov.br

Eduardo Magalhães, BA (2007). Destas regiões, permanece ainda como “site de seleção”, Goianésia que tem importante apoio operacional do Grupo Jalles Machado. Estas últimas duas contemplam regiões de excessivo déficit hídrico, possibilitando a seleção de cultivares de grande tolerância à seca. Recentemente, foram reestruturados os sites regionais do estado de São Paulo para atender os ajustes de logística do Programa Cana IAC (Tabela 1). Ficaram compostos por Ribeirão Preto, Jaú, Mococa, Pindorama, Assis e Goianésia (Figura1).

A partir de 2003, a canavicultura paulista e brasileira experimentou um novo período de expansão, incluindo

uma ampla diversidade de ambientes sendo caracterizadas pelas antigas áreas do cerrado, conhecidas pelas restrições hídricas e químicas dos solos. O Programa Cana IAC já tinha se antecipado a este fato em uma década, quando instalou uma ampla rede experimental a partir de 1994 nessas regiões, estabelecendo a priorização de estratégias regionais de seleção. Nesta ocasião, foi realizada a caracterização destas regiões quanto ao déficit hídrico, assim como dos principais solos e clima (Tabela 1), primordial para a interpretação da expressão da produção dos genótipos em avaliação.

Tabela 1. Características edafoclimáticas das seis re-

giões de seleção utilizadas pelo Programa Cana IAC em 2020

Características dos Ambientes nas Unidades Regionais de Seleção		
Regiões	Clima*	Solos Predominantes nos Sites de Seleção
Ribeirão Preto	Cwa para Aw	Latossolo Vermelho eutroférico, distrófico e acriférico
Jaú	Cwa	Latossolo Vermelho distroférico, eutroférico e distrófico típico álico
Mococa	Aw	Latossolo Vermelho distrófico e distrófico típico álico
Pindorama	Aw	Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico
Assis	Cwa para Cfa	Neossolo Quartzarênico órtico
Goianésia	Cwa	Latossolos distróficos e ácricos

*classificação segundo Köppen.

A população de colmos ha^{-1} , que é uma característica determinante de uma variedade de cana-de-açúcar e muito

correlacionada com a produtividade agrícola (tonelada de colmos ha^{-1}), foi o componente biométrico mais utilizado para identificar os genótipos de maior

adaptação as regiões de déficit hídrico pronunciado. Na Figura 1, ilustramos isso. Portanto, mereceu uma ênfase

maior no processo de caracterização e seleção nos diferentes sites estabelecidos.

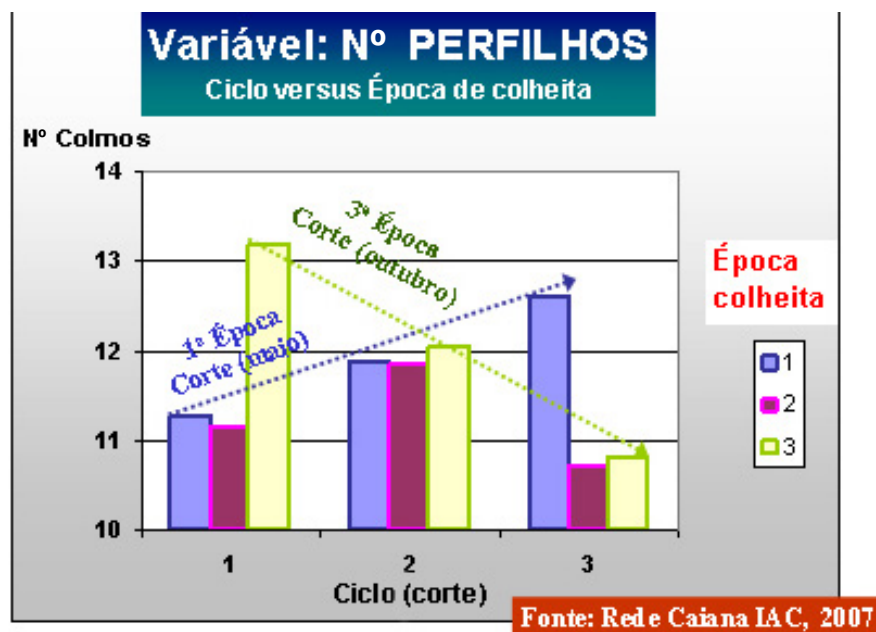


Figura 1. Números de perfilhos (colmos) finais em três cortes (ciclos) realizados no outono (< déficit hídrico), inverno (médio déficit hídrico) e primavera (> déficit hídrico). Fonte: Rede Caiana IAC, 2007.

Assim, a adaptação ambiental pode ser traduzida pela expressão dos caracteres relacionados diretamente com a produtividade. No cerrado, por exemplo, caracteres como tolerância ao estresse hídrico, brotação de soqueiras, perda de densidade dos colmos e ausência de florescimento assumem importância estratégica na seleção (Tabela 2). Na região central e sul do estado de São Paulo, o estresse hídrico é menor, dando ocasião para seleção de genótipos mais responsivos a essa melhor condição de desenvolvimento. No entanto, estas

regiões tendem a ter temperaturas mais amenas, fazendo com que variedades adaptadas às regiões de Ribeirão Preto e Pindorama, por exemplo, muitas vezes, venham a ter respostas inferiores nestas regiões mais frias.

A produtividade física de um canavial é composta pelos atributos biométricos: diâmetro e altura média dos colmos associados ao número destes em uma unidade de área (Figura 2). A densidade do colmo que normalmente é próxima do valor 1, em regiões de estresse hídrico elevado poderá ser inferior a esse valor, ocasionando equívocos

na estimativa da produtividade da cultura. O número de colmos por metro que é uma característica marcante de uma variedade de cana-de-açúcar, normalmente, é o componente biométrico mais afetado nas regiões de cerrado, principalmente, na cana-de-açúcar com o ciclo de desenvolvimento da primavera, ou seja, aquelas colhidas no final de safra (Figura 1).

Os componentes de produção determinantes para o potencial agrícola são: altura de colmo (h), número de perfilhos (C) e diâmetro de colmos (d). Considerando-se a densidade do colmo igual a 1, o valor da tonelada de cana por hectare (TCH) pode ser estimada pela fórmula abaixo, no espaçamento entre os sulcos de plantio (E), figura 2:

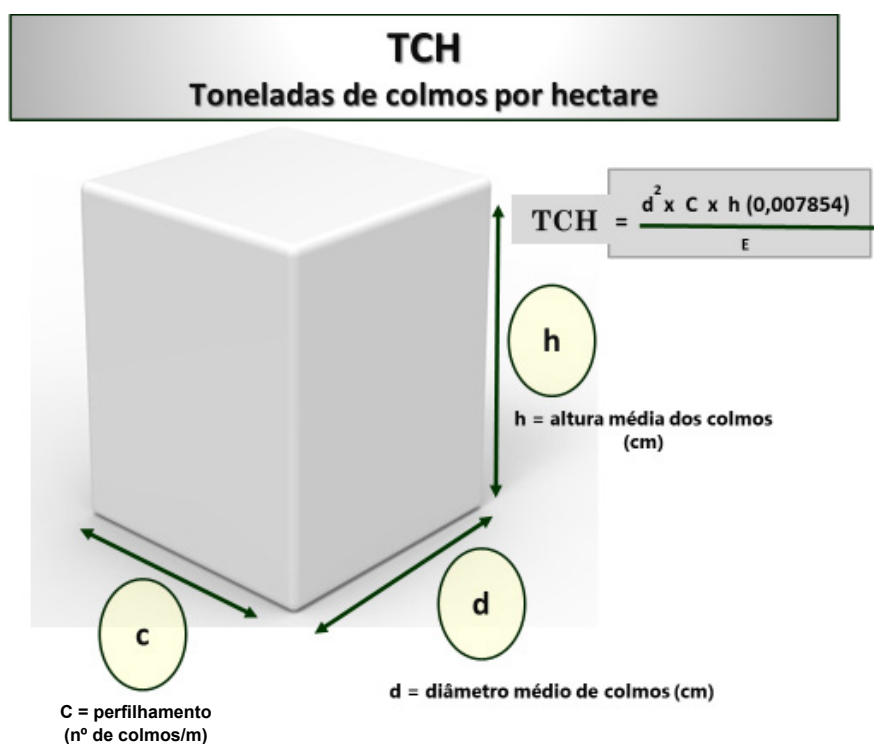


Figura 2. Componentes biométricos da produtividade de colmos em cana-de-açúcar (E = espaçamento entre os sulcos de plantio).

Desse modo, uma caracterização climática destas unidades de seleção foi obtida através do Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas - CIAGRO/IAC utilizando-se dos balanços hídricos médios das regiões de Piracicaba,

Ribeirão Preto, Assis, Pindorama, Jaú e Mococa. A safra foi dividida em três períodos de doze meses cada uma representando o início (safra de outono - maio a abril), o meio (safra de inverno - agosto a julho) e o final (safra de primavera - novembro a outubro). Considerou-se

para efeito de cálculo do déficit estratificado, o valor máximo da capacidade de água disponível dos solos caracterizados como superiores, médios e inferiores, sendo respectivamente 100, 65

e 35 mm e dos ambientes de produção (Prado et al., 2002). Os déficits hídricos de algumas regiões são apresentados na Tabela 3 para exemplificar o estudo.

Tabela 2. Características peculiares objetivadas no processo de seleção em cada uma das regiões de estudo

Regiões	Características peculiares priorizadas no processo de seleção
2 Ribeirão Preto	Maior capacidade de brotar e desenvolver em período de estresse hídrico
3 Jaú	Maior resistência às doenças fúngicas, maior capacidade de produção agroindustrial
4 Mococa	Maior potencial de maturação em condições de baixo estresse hídrico
5 Pindorama	Maior capacidade de brotação em período de estresse hídrico e adaptação a temperaturas elevadas.
6 Assis	Maior potencial de maturação em condições de baixo estresse hídrico
8 Goianésia	Capacidade de suportar longo período de estresse hídrico, adaptação a temperaturas elevadas e menos sensíveis a indução ao florescimento

Observa-se, de uma maneira geral, que o déficit é menor nos canaviais de ciclo de outono, aumentando naqueles colhidos no meio de safra (ciclo inverno), e assumindo proporções extremamente restritivas no final de safra (ciclo de primavera). O menor valor de déficit hídrico para final de safra (primavera) é da região de Assis, com média de 360 mm, Piracicaba (460 mm), Mococa (510 mm), Ribeirão Preto (522 mm), Pindorama (534 mm) e Jaú (572 mm) aparecem na sequência. Scarpari & Beauclair (2004) relataram

que uma seca superior a 130 mm nos meses que antecedem a colheita, já afeta o acúmulo de sacarose no colmo e Inman-Bamber (2004) mostrou que o acúmulo de biomassa é grandemente reduzido com o déficit hídrico superior a 120 mm anuais e o acúmulo de sacarose no colmo é afetado com déficit hídrico superior a 145 mm anuais. Todas as áreas apresentaram déficits muito superiores a 130 mm na safra de primavera (final de safra), afetando o crescimento e maturação da cultura.

Na safra de inverno (meio de safra), apenas Mococa e Pindorama apresentaram valores abaixo de 130 mm sendo áreas favoráveis à maturação. Para a safra de outono (início de safra), todas as regiões analisadas apresentaram valores médios abaixo de 130 mm.

Considerações finais

Conforme discutido nesse texto, a análise regionalizada do déficit hídrico segmentada em ciclos de outono, inverno e primavera, possibilita a criação de cenários bem fundamentados visando à caracterização e o comportamento do crescimento das variedades além da seleção direcionada de genótipos tolerantes ao estresse hídrico pelos programas de melhoramento, necessidade principalmente das novas áreas de expansão canavieira.

Fruto desta estratégia, o IAC tem apresentado diversas variedades para o setor sucroenergético nestes últimos anos abrangendo todos os ambientes possíveis conforme Tabela 4 que indica o perfil de resposta das principais variedades lançadas pelo Programa Cana IAC nos últimos vinte anos, assim como o "site" de origem das mesmas. A cor "amarela" mostra que quatro variedades

apresentam um perfil mais rústico. Esse conjunto de variedades foram selecionadas na região de Goianésia (GO), Pindorama, Jaú e Mococa (SP). Basicamente quase todas as regiões tiveram variedades com perfil responsivo e estável. Dentre as estáveis destacamos as variedades IAC91-1099, originária da região de Piracicaba (SP), mas com grande sucesso em toda a Região originalmente ocupada pelo Cerrado no Centro-Sul do Brasil. Também destaca-se a IACSP95-5094 (região 5, Pindorama, SP) que apresenta grande expansão em toda esta região com grande destaque, inclusive para áreas irrigadas.

A Tabela 5, nos dá uma dimensão da Rede Experimental PROCANA IAC de desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar. Temos o equivalente a 626 campos experimentais sendo que 510 desses, referem-se ao que denominamos Ensaio Nacional que reúne os genótipos em sua fase final de seleção, portanto, reúne em competição o que chamamos de pré-variedades. Nos próximos dois a três anos, deve ocorrer o lançamento de aproximadamente cinco novas variedades IAC para o setor sucroenergético de São Paulo e do Brasil.

Tabela 3. Déficit hídrico estratificado de algumas regiões canavieiras ao longo da safra, em função do ambiente de produção e dos períodos dentro da safra

Ribeirão Preto (em mm)

	SAFRA		
Ambientes	outono	inverno	primavera
Superiores	21	147	489
Médios	29	174	524
Inferiores	43	203	554

Assis (em mm)

	SAFRA		
Ambientes	outono	inverno	primavera
Superiores	82	130	327
Médios	103	156	360
Inferiores	128	184	390

Jaú (em mm)

	SAFRA		
Ambientes	outono	inverno	primavera
Superiores	91	247	539
Médios	112	279	574
Inferiores	138	309	604

Mococa (em mm)

	SAFRA		
Ambientes	outono	inverno	primavera
Superiores	12	90	477
Médios	17	112	512
Inferiores	26	138	542

Piracicaba (em mm)

	SAFRA		
Ambientes	outono	inverno	primavera
Superiores	73	152	427
Médios	92	180	462
Inferiores	116	209	492

Pindorama (em mm)

	SAFRA		
Ambientes	outono	inverno	primavera
Superiores	70	99	502
Médios	92	125	536
Inferiores	124	161	567

Tabela 4. Origem de seleção e perfil de resposta das variedades de cana-de-açúcar lançadas pelo Programa Cana IAC

PERFIL VARIETAL	REGIÕES DE SELEÇÃO/SITES DE INTRODUÇÃO DE SEEDLINGS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
AC87-3396									
AC91-1099									
AC86-248C									
AC91-2218									
ACSP93-6006									
ACSP93-3046									
ACSP95-3028									
ACSP95-500C									
ACSP95-5094									
ACSP96-2042									
ACSP96-7569									
AXSP97-4039									
ACSP01-3127									
ACSP01-5503									
ACC-C05-8069									
ACC-C07-8008									
ACC-C07-8044									
ACSP04-6007									

	ESTÁVEL
	RESPONSIVA
	RÚSTICA

Tabela 5. Rede experimental do Programa Cana IAC em 2020

ENSAIOS ATIVOS DA REDE PROCANA IAC

TIPO	LOCAIS	ÉPOCAS	TOTAL
NACIONAL 2015	57	2,3	131,1
NACIONAL 2016	45	2,1	94,5
NACIONAL 2017	38	2,4	91,2
NACIONAL 2018	45	2,3	103,5
NACIONAL 2019	41	2,2	90,2
ENSAIOS NACIONAL			510
REGIONAIS 2015	14		14
REGIONAIS 2016	23		23
REGIONAIS 2017	28		28
REGIONAIS 2018	20		20
REGIONAIS 2019	31		31
ENSAIOS REGIONAIS			116
TOTAL DE ENSAIOS DE COMPETIÇÃO DA REDE CANA IAC			626

Referências

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Agro um bom negócio em São Paulo. 2020. Disponível em: <https://www.saopaulo.sp.gov.br/agronegocio/>. Acesso em: 10/ago./2020.

INMAN-BAMBER, N. G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. *Field Crops Research*, v. 89, p. 107-122, 2004.

PRADO, H.; LANDELL, M. G. A.; ROSSETTO, R. A importância do conhecimento pedológico nos ambientes de produção de cana-de-açúcar. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DE SOLO E ÁGUA, 14., 2002, Cuiabá. Anais... Cuiabá: SBCS, 2002. 1 CD-ROM.

SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E. G. F. de. Sugarcane maturity estimation through edaphic-climatic parameters. *Scientia Agricola*, v. 61, n. 5, p. 486-491, 2004.



Cana geneticamente modificada: uma tecnologia disruptiva para aumento da produtividade e sustentabilidade

Rafael Fávero Peixoto Junior¹
Larissa Mara de Andrade¹
Silvana Creste¹

Introdução

A cana-de-açúcar é a segunda cultura mais importante do Brasil em geração de renda, usada para produção de açúcar, etanol combustível e cogeração de energia elétrica. O Brasil destaca-se como maior produtor de cana-de-açúcar, com produção equivalente a 40% do total mundial. Na safra 2018/2019, a produção foi de 577 milhões de toneladas em uma área de 9,1 milhões de hectares, distribuídos em todos os estados produtores, sendo o estado de São Paulo o maior deles, contribuindo com 55% da área total plantada (OECD/FAO, 2019).

A demanda global por energia renovável, em substituição aos combustíveis

fósseis, tem orientado o desenvolvimento de novas estratégias de pesquisa para aumentar a produtividade da cana-de-açúcar. Nesse sentido, o elevado potencial de produção de biomassa, resultou, na última década, no desenvolvimento de um novo biótipo de cana, com elevado teor de fibra, denominado cana energia, destinada à produção de etanol lignocelulósico e cogeração de energia elétrica. O potencial de produção de bioetanol a partir da cana ditou os ritmos e o investimento da indústria (Avila, 2019). No entanto, apesar dos avanços no desenvolvimento de cultivares, a obtenção de genótipos altamente produtivos, com plasticidade às variações do ambiente e, aptos a serem processados na indústria de etanol de segunda geração, ainda permanecem como um dos principais desafios dos

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Cana, Ribeirão Preto (SP). screste@iac.sp.gov.br

programas de melhoramento de cana. O estresse por seca tem sido considerado o principal estresse abiótico na agricultura (CONAB, 2015), particularmente para a cultura da cana-de-açúcar. A falta de chuvas na Região Centro-Sul nas fases de rebrota e crescimento do canavial resultou numa queda de 6% da produtividade na safra 2018/2019, refletida na redução de 36 milhões de toneladas.

Produtividade e sustentabilidade

A seleção de cultivares capazes de manter um bom desempenho produtivo em condições de deficiência hídrica tem se tornado uma estratégia essencial nos programas de melhoramento genético de cana. Sabe-se que as cultivares de cana-de-açúcar possuem extensa variabilidade genética em relação à resposta à seca, sendo alguns genótipos capazes de tolerar estresses severos e mesmo assim, completar o seu ciclo, enquanto outros não sobrevivem ou sofrem grandes perdas na sua produção (Silva et al., 2008). Alguns trabalhos mostram que a cana-de-açúcar possui mecanismos distintos de tolerância à seca, com destaque para o controle estomático, o enrolamento foliar, o tamanho e a distribuição do sistema radicular (Inmam-Bamber e Smith, 2005; Boaretto et al., 2014). Dessa forma, identificar e compreender os mecanismos de tolerância à seca são fundamentais no desenvolvimento de novas cultivares

comerciais mais tolerantes à falta de água, devendo-se considerar a intensidade e a duração do período de seca, assim como a capacidade genética das plantas em responder às mudanças do ambiente (Chaves, 1991). Embora a variabilidade dos genótipos seja uma ferramenta muito importante para o desenvolvimento de cultivares tolerantes pelo melhoramento genético clássico, a complexidade do genoma da cana-de-açúcar, somado à herança quantitativa dos mecanismos envolvidos na tolerância à seca, representam os principais desafios para o desenvolvimento de cultivares com desempenho satisfatório em condições restritivas de água.

O uso da biotecnologia nos programas de melhoramento, apesar de desafiador, constitui uma alternativa viável para a obtenção de variedades superiores dentro de um contexto econômico e sustentável. A exemplo de uma série de culturas de grãos transgênicos, como soja, milho e algodão, a crescente adoção de cultivares de cana Bt com resistência à broca-da-cana desenvolvidas pelo CTC, revelam o potencial dessa tecnologia para inovar o sistema de produção de cana no Brasil. Nesse sentido, pesquisas desenvolvidas no Programa Cana IAC têm se dedicado à descoberta de novos genes que possam ser utilizados para o desenvolvimento de cultivares transgênicas com tolerância à seca, aumento de biomassa e melhoria no processo de sacarificação.

Visando a busca por fatores genéticos envolvidos com o processo de resposta à seca em cana-de-açúcar, duas abordagens para análise de expressão global (Microarranjo e RNA-seq) foram utilizadas. Estes estudos possibilitaram a identificação de uma série de genes, diferencialmente expressos sob condições de seca em dois genótipos que contrastam para produtividade sob condições de restrição hídrica, sendo a 'IACSP94-2094' referida como tolerante e a 'IACSP97-7065', como sensível. Foram identificados genes relacionados a diferentes processos celulares, incluindo fatores de transcrição com potencial para serem utilizados no estudo de genômica funcional e, consequentemente, no desenvolvimento de novas variedades via transgenia. A partir desses estudos, diversos genes foram validados funcionalmente utilizando o arroz como planta modelo, sendo dois deles, um fator de transcrição MYB (*ScMYBAS1* - Peixoto-Junior et al., 2018) e o gene da dirigente Jacalina (*ShDJ* - Andrade et al., 2019) protegidos por pedido de patente (INPI BR 10 2017 016565 e INPI BR 10 2017 016565 5). MYB é um fator de transcrição associado a várias respostas a estresses bióticos e abióticos em plantas. Na cana-de-açúcar, o MYB possui quatro transcritos produzidos a partir de *splicing* alternativo, dois deles identificados pelo Programa Cana IAC (Oliveira, 2012; Peixoto Junior, et al., 2018). A análise funcional no arroz de duas

variantes (*ScMYBAS1-2* e *ScMYBAS1-3*) revelou que elas possuem funções diferentes na definição do fenótipo em relação à tolerância à seca. Embora ambas tenham conferido tolerância às linhagens transgênicas em comparação com as plantas controle, o transcrito *ScMYBAS1-2* mostrou uma redução na produção de biomassa, enquanto o *ScMYBAS1-3* mostrou aumento de biomassa e do sistema radicular, figura 1 (Peixoto Junior et al., 2018). *ShDJ* é uma proteína pertencente ao grupo das lectinas. A análise funcional em linhagens transgênicas de arroz superexpressando o gene *ShDJ* da cana mostrou um aumento no conteúdo de biomassa (até 355%), figura 2, quando as plantas foram submetidas à privação de água, indicando seu envolvimento na tolerância à seca (Andrade et al., 2019). Portanto, tanto *ScMYBAS1-3* como *ShDJ*, apresentam-se como genes candidatos para a transformação genética de cana-de-açúcar, visando à obtenção de plantas com melhor desempenho sob condições restritivas de água e maior conteúdo de biomassa.

Um terceiro gene identificado pelo nosso grupo de pesquisa (SHINE - *ShSNH1*) possui potencial biotecnológico para melhorar a qualidade da biomassa para uso na indústria de etanol de segunda geração. Embora a biomassa lignocelulósica tenha alto potencial energético, sua conversão em biocombustíveis

ainda enfrenta obstáculos técnicos e econômicos. A lignina, componente estrutural da parede celular da planta, dificulta o processo de sacarificação (conversão de celulose em monômeros de glicose fermentáveis), essencial para a produção de biocombustíveis. Portanto, é necessário um aprimoramento da qualidade da matéria-prima. Nosso grupo de pesquisa identificou a partir de transcriptoma e dados genômicos funcionais, que o ShSNH1 promoveu concomitantemente um aumento de biomassa em até 3,5 vezes e uma melhoria na sacarificação de até 52% nas plantas de arroz transgênico em comparação com o tipo selvagem (Martins et al., 2018). Além disso, em cana-de-açúcar, plantas transgênicas superexpressando ShSNH1 mostraram aumento de biomassa e diminuição na lignina de cerca de 60 a 70%. A redução da lignina não afetou a performance da planta e revelou ser de grande potencial para gerar um produto biotecnológico com aplicação comercial e industrial. A manipulação de um único gene alterou duas características importantes na produção de etanol 2G (produtividade e sacarificação) em gramíneas, que são as principais culturas bioenergéticas. Como consequência de nossas descobertas, depositamos um pedido de patente ShSNH1 em 2018 (BR 10 2018

070416-8) e, em 2017, iniciamos um projeto de pesquisa em parceria com a Granbio Investimentos SA, visando a produção de

canas de energia superexpressando ShSNH1. Centenas de plantas transgênicas de uma série de cultivares Vx estão atualmente em testes de campo pela Granbio em Maceió, AL (Figura 3), e há expectativa de lançamento de um evento transgênico nos próximos anos.

Considerações finais

O desenvolvimento de variedades provenientes da engenharia genética ainda representa um desafio para os programas de melhoramento de cana-de-açúcar, principalmente em relação a disponibilidade de genes que agreguem características desejáveis. Contudo, a cana geneticamente modificada apresenta-se como excelente oportunidade para obtenção de uma agricultura mais sustentável e eficiente. Investimentos para o desenvolvimento e a expansão desta tecnologia, vão além das universidades, e são aplicados na criação de centros de pesquisas privados e estatais e nas parcerias público-privadas.

Na próxima década, as variedades de cana-de-açúcar deverão, por meio de tecnologias específicas, exibir elevado potencial produtivo com redução do impacto ambiental, possivelmente alcançado pelo desenvolvimento de variedades com maior eficiência no uso da água e compostos nitrogenados, redução na dependência de defensivos químicos, no controle de pragas e doenças, e no desenvolvimento de produtos biodegradáveis.

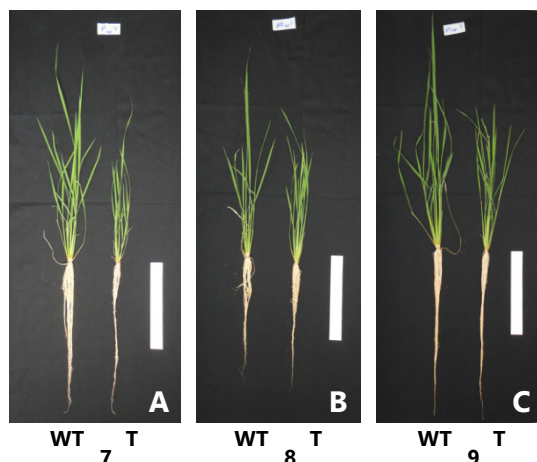


Figura 1. Aspectos fenotípicos das linhagens transgênicas de arroz superexpressando o ScMYBAS1 com 30 dias de desenvolvimento: (A), (B) e (C) correspondem as linhagens 7, 8 e 9. T, Transgênico. WT, Wild type (linhagem selvagem). Escala (barra branca) = 20 cm.

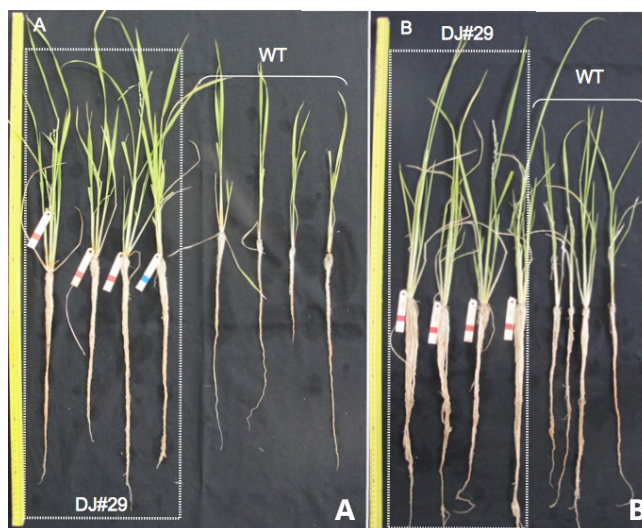


Figura 2. Aspectos fenotípicos da linhagem transgênica DJ#29 de arroz superexpressando o gene ShDJ com 30 dias de desenvolvimento. Wild Type, Linhagem selvagem. (A) plantas mantidas sob irrigação; (B) plantas submetidas ao déficit hídrico.



Figura 3. Eventos de cana-energia transgênicos, superexpressando o fator de transcrição ShSNH1, em fase de experimentação em campo, pela Granbio, em Maceió (AL). Foto: José Bressiani.

Referências

- ANDRADE, L. M.; PEIXOTO-JUNIOR, R. F.; NÓBILE, P. M.; BRITO, M. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; CAVALLARI, S. D. C.; MARTINS, A. P. B.; GOLDMAN, M. H. S.; LLERENA, J. P. P.; FREGONESI, C.; PERECIN, D.; OLIVEIRA, J. F. C. N.; FIGUEIRA, A. V. O.; BENNATTI, T.; SILVA, J. da; MAZZAFERA, P.; CRESTE, S. Biomass accumulation and cell wall structure of rice plants overexpressing a dirigent-jacalin of sugarcane (ShDJ) under varying water availability. *Frontiers in Plant Science*, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00065>.
- AVILA, S. Brazilian Sugarcane Yearbook. *Gazeta* (ed.). 2019. 56p.
- BOARETTO, L. F.; CARVALHO, G.; BORGGO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M. G. A.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. *Plant Physiol Biochem*, Bari, v. 74, p. 165-175, 2014.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, v. 42, p. 1-16, 1991.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento de safra brasileira de cana-de-açúcar, v. 1 - safra 2014/15, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília, 2015. 29p.
- INMAR-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crops Research*, v. 92, p. 185-202, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.01.023>.
- MARTINS, A. P. B.; BRITO, M. S.; MAYER, J. L. S.; LLERENA, J. P. P.; OLIVEIRA, J. F.; TAKAHASHI, N. G.; CARLIN, S. D.; BORGES, D. N. A. F.; ANDRADE, L. M.; PEIXOTO-JÚNIOR, R. F.; GOLDMAN, M. H. S.; MAZZAFERA, P.; CRESTE, S.; NOBILE, P. M. Ectopic expression of sugarcane SHINE changes cell wall and improves biomass in rice. *BIOMASS & BIOENERGY*, v. 119, p. 322-334, 2018.
- OLIVEIRA, J. F. N. C. Caracterização fisiológica e perfil de expressão gênica de cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) contrastantes para o déficit hídrico. 2012. 327 f. (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- PEIXOTO-JUNIOR, R. F.; ANDRADE, L. M.; BRITO, M. S.; NOBILE, P. M.; MARTINS, A. P. B.; CARLIN, S. D.; RIBEIRO, R. V.; GOLDMAN, M. H. S.; OLIVEIRA, J. F. N. C.; FIGUEIRA, A. V. O.; CRESTE, S. Overexpression of ScMYBAS1 alternative splicing transcripts differentially impacts biomass accumulation and drought tolerance in rice transgenic plants. *PLoS ONE* 13(12): e0207534, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207534>.
- OECD/FAO, 2019. OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028.
- SILVA, M. A.; SILVA, J. A. G.; ENCISO, J.; SHARMA, V.; JIFON, J. Yield components as indicators of drought tolerance of sugarcane. *Sci. Agric.*, v. 65, p. 620-627, 2008.



INCT de Plataformas de Genômica Comparativa, Funcional e Melhoramento Assistido de Citros (INCT Citros)

Marcos Antonio Machado¹

Introdução

A citricultura brasileira se destaca como uma das mais importantes atividades do agronegócio, sendo os estados de São Paulo, Sergipe e Bahia os principais produtores de citros e o Brasil o maior exportador de suco concentrado congelado (COJ) e suco não concentrado (NFC). A baixa produtividade agrícola brasileira (média de 2 caixas de 40,8 kg/planta/ano) está associada à expansão simultânea de pragas e doenças, com significativo reflexo nos custos de produção, ao plantio sem áreas irrigadas e à estreita base genética da citricultura.

Estima-se que mais de 60% dos custos de produção de citros no Brasil estejam relacionados ao controle fitossanitário de pragas e doenças. Entre as doenças destacam-se a clorose variegada dos citros,

a leprose, a pinta preta, a mancha de alternaria, a morte súbita, o Cancro Cítrico, a gomose, a tristeza e, mais recentemente, o *Huanglongbing* (*greening*). O esgotamento do modelo de convivência ou de controle químico de vetores de doenças com seus altos custos financeiros e ambientais têm destacado a importância dos trabalhos de melhoramento genético, como estratégia abrangente e duradoura de controle de doenças.

O Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira" (CCSM/IAC) do Instituto Agrônomo (IAC) e a Embrapa atuam há vários anos no melhoramento de citros, desenvolvendo trabalhos de produção e avaliação de novos materiais genéticos incorporando ferramentas de biotecnologia para acelerar ganhos

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira", Cordeirópolis (SP).
marcos@iac.sp.gov.br

genéticos. Como um dos Institutos do Milênio do CNPq/MCT (2002-2005), o CCSM/IAC desenvolveu extenso banco de dados de genoma expresso de citros (CitEST), integrando melhoramento genético, genoma comparativo e funcional de citros e alguns de seus patógenos. Além de gerar o maior banco de dados de genoma de citros no mundo, esse projeto ampliou sobremaneira o número de novos híbridos em avaliação de campo, além de marcadores moleculares para mapeamento genético e descobriu novos genes potencialmente associados a resistência a doenças.

O INCT Citros

A proposta aprovada como Instituto Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação com INCT de Genômica comparativo, funcional e melhoramento assistido de citros representa a continuidade de programas anteriores, como PADCT, Pronex Instituto do Milênio, Temáticos da FAPESP e INCT I, não só agregando as principais equipes que trabalham com citros no Brasil, mas focalizando os temas relacionados ao melhoramento genético e genoma funcional do grupo citros, procurando integrar três plataformas:

Plataforma de Informação Genômica: estudos de genoma comparativo e funcional permitindo a *ampliação da base de*

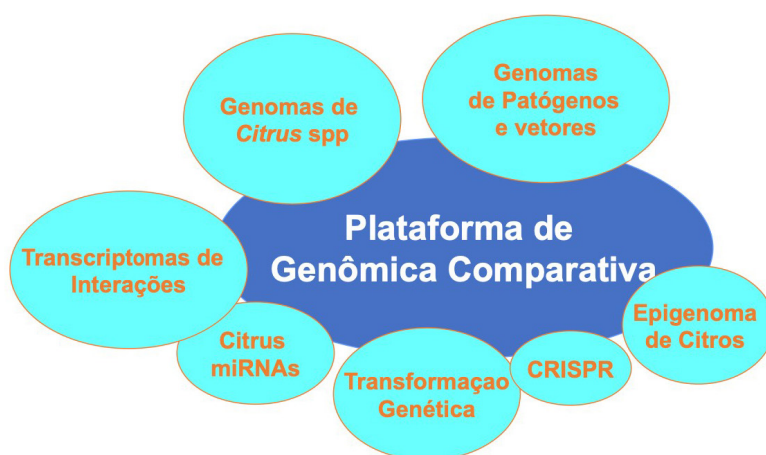
informações, incluindo *genoma completo* associado ao Consórcio Internacional do Genoma Citros, ampliação da base de dados de *genoma expresso*, estudos de *expressão gênica* (microarranjos) de citros e alguns de seus patógenos, suporte de *bioinformática* e *transformação genética* para produção de plantas geneticamente modificadas a partir de informações de genoma (Figura 1).

Plataforma para Aplicação Genômica: estudos das interações planta-patógeno em patossistemas limitantes à citricultura brasileira e das interações planta-ambiente abiótico (estresse hídrico). Tais estudos permitirão ampliar a base de conhecimentos potencialmente aplicáveis nas fases seguintes do programa (Figura 2).

Plataforma de Aplicação Genética: representa a interface avançada do melhoramento na qual muitas informações geradas previamente (marcadores, mapas, genes, promotores), assim como material genético (híbridos de cruzamento controlado e eventos de transformação genética já obtidos) serão validados em condições de campo, permitindo uma razoável aproximação da estratégia de melhoramento assistido por marcadores. Dessa plataforma derivarão novos materiais genéticos para a citricultura brasileira (Figura 3).

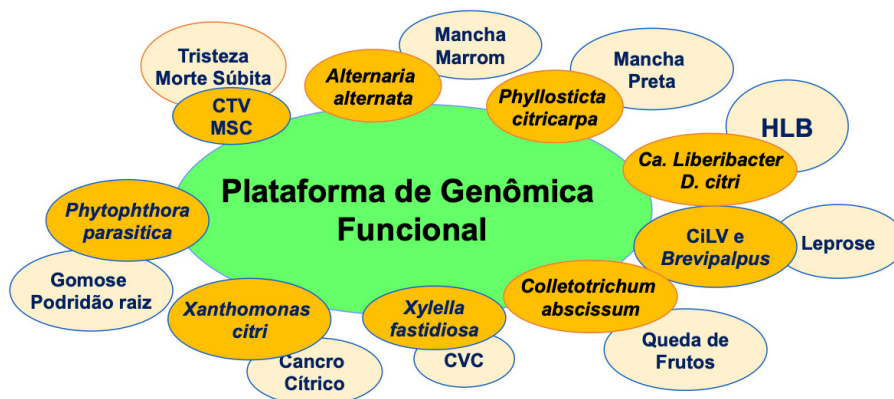
A rede multidisciplinar e multi-institucional do Programa inclui, além do CCSM/IAC na condição de coordenação, a Embrapa Mandioca e Fruticultura e sua rede de melhoramento de citros em outras unidades da Empresa, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) e o Centro

de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), a Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), o Instituto Biológico, a Universidade Federal de Campina Grande, a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (Vitória da Conquista), a Universidade de Mogi das Cruzes (UMC) e a Universidade da Flórida.



Objetivos Principais:
Estabelecer e explorar base de dados de genomas e transcriptomas de citros, seus patógenos e vetores de doenças de citros.

Figura 1. Interfaces na plataforma de genômica comparativa de citros, seus patógenos e vetores de doenças.



Objetivos Principais:
Identificar genes e vias metabólicas em genótipos de citros associados com a resposta a patógenos ou vetores. Estabelecer novas abordagens para manejo de doenças.

Figura 2. Diferentes aspectos nos estudos de interação de citros com seus mais importantes patógenos e vetores de doenças.



Objetivos Principais:
Produzir, testar e transferir aos produtos novos genótipos de copa e porta-enxertos de citros.

Figura 3. Plataforma de melhoramento assistido de citros, cujo foco principal é a produção e uso de novos genótipos de citros para o setor citrícola.

Ao longo de 10 anos o Programa do INCT Citros permitiu significativos avanços no melhoramento, genética e biologia molecular de citros e de seus patógenos. Derivado de programas como PADCT (Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico), Pronex (Programa de Apoio aos Núcleos de Excelência), Instituto do Milênio e vários projetos temáticos e individuais da FAPESP, o INCT consolidou uma base de informações e de interações ímpar nos trabalhos com citros no Brasil. A seguir são apresentados os mais significativos resultados em cada uma das três plataformas.

O foco principal do INCT Citros tem sido a consolidação de uma plataforma integrada de melhoramento de citros, desde os aspectos básicos de genética molecular até a produção de novas cultivares copa e porta-enxertos. A diretriz principal do programa é o entendimento dos processos de desenvolvimento de interações de citros com fatores bióticos (doenças e pragas), considerando os principais limitantes da citricultura brasileira e mundial (Figura 4).



Figura 4. Principais doenças e pragas de citros que afetam a copa e o porta-enxerto.

Plataforma de Genômica Comparativa

Sequenciamento completo dos genomas de clementina (genoma de referência, haploide), laranja doce, tangerina, limão Cravo, *Poncirus trifoliata* e outras espécies de citros tem sido ferramenta para acessar e comparar informações genéticas e genômicas dessas espécies. Foi uma das principais metas do INCT Citros em parceria com o Consórcio Internacional do Genoma Citros, finalmente concluída (Figura 5). Por vários anos os grupos no Consórcio tentaram em diferentes frentes a finalização de um genoma de referência de citros,

tendo sido decidido que esse genoma seria o de *Citrus clementina*, pela existência de plantas haploides disponíveis para o sequenciamento. Provavelmente esse tenha sido o último genoma a ser sequenciado com tecnologia Sanger, gerando assim um genoma de referência de alta qualidade. Com o re-sequenciamento e sequenciamento "de novo" de outras espécies e a existência desse genoma de referência os estudos sobre genética e genômica do grupo citros tornaram-se factíveis a todos os grupos interessados.



Figura 5. Capa da revista Nature Biotechnology com a publicação do genoma de citros desenvolvido em parcerias com o INCT Citros (Wu et al., 2014).

O genoma de patógenos e endofíticos de citros (*Phytophthora parasítica*, *Phyllosticta citricarpa*, *P. capitalensis*, *P. citribasiliense*, *Alternaria alternata* complexos do vírus da morte súbita dos citros, vírus da leprose, ácaro vetor do vírus da leprose), foram etapas essenciais para ampliar a base de dados e informações desses organismos e conhecer melhor suas interações com os hospedeiros.

Com os avanços nas novas tecnologias de sequenciamento, particularmente com a plataforma da Illumina, houve expansão considerável das

bases de dados de transcriptoma, particularmente nas interações citros com seus patógenos. Utilizando-se dessa tecnologia em substituição à tecnologia de microarranjos de DNA, o INCT Citros ampliou o transcriptoma nas condições de infecção por *Huanglongbing*, leprose, clorose variegada dos citros e morte súbita. Embora a complexidade da análise de grande volume de informação nem sempre permitiram extrair dados conclusivos, a base de dados tem orientado a validação de novos genes ou vias até então não relacionadas com esses processos, como a participação da via de auxina na resposta à *Xylella fastidiosa*, ou da via de ácido salicílico e jasmonato na resposta à infecção por *Candidatus Liberibacter* spp. Com o alinhamento das bases de sequenciamento de RNAs no genoma de referência a base de informações de SNPs tem também ampliado.

Plataforma de Genômica Funcional

Essa plataforma focaliza o entendimento de processos complexos na interação de citros com seus patógenos, bem como o desenvolvimento de mapas genéticos saturados de progênies segregantes de cruzamentos interespecíficos. Com o transcriptoma da interação de genótipos tolerantes (*Poncirus trifoliata*) e suscetíveis (tangerina Sunki) com *Phytophthora parasita*, agente da gomose dos citros, foi demonstrado

que um dos fatores da resistência de *Poncirus* está na supressão da resposta de hipersensibilidade (HR) induzida pelo patógeno. O genótipo suscetível (tangerina Sunki) amplia a HR, favorecendo a fase necrotrópica do patógeno e com isso desenvolvendo a doença. Tais resultados foram publicados como capa da revista *Molecular Plant-Microbe Interactions* (MPMI; Figura 6).

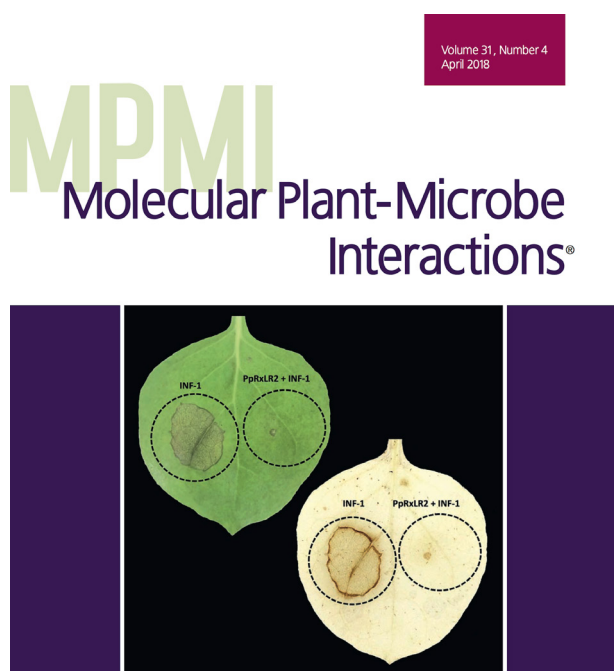


Figura 6. Capa da revista *Molecular Plant-Microbe Interactions* sobre efetores de HR na resposta a *Phytophthora parasitica*. (Dalio et al., 2016).

Estudos de transcriptoma no patossistema leprose utilizando-se *Arabidopsis* como planta modelo e, posteriormente validado em citros, demonstraram que o ácaro vetor ao inocular o vírus da leprose induz reação de hipersensibilidade

na planta, o que favorece a subsequente colonização do ácaro (Arena et al., 2018). Avaliando-se genes candidatos a efetores em *Diaphorina citri*, vetor da bactéria do HLB dos citros, demonstrou-se ser possível interferir a capacidade de alimentação de inseto, uma estratégia interessante para novas abordagens de controle (Pacheco et al., 2020).

Mapas de ligação desenvolvidos no INCT Citros representam a base genética para a construção dos mapas físicos do grupo citros. Para tanto, eles devem ser o mais saturados possível com marcadores com adequada segregação mendeliana. O baixo poliformismo no grupo citros tem atrasado avanços nesse sentido, obrigando a busca de marcadores com maior densidade e polimorfismo, como os marcadores DArT. A taxa de saturação desses marcadores é evidentemente associada ao polimorfismo nos progenitores e na progênie, mas, de qualquer modo, com maior eficiência que outros marcadores. Sem dúvida alguma a estratégia "final" para os marcadores são os SNPs (*Single Nucleotides Polymorphism*), particularmente com o grande volume de informações de sequenciamento associado ao genoma de referência de clementina. Mapa de sintenia entre marcadores moleculares tipo SNPs e genoma mostram uma boa colinearidade, indicando que a estratégia de associar marcadores é adequada para mapear genes e, finalmente, associá-los ao fenótipo (Figura 7).

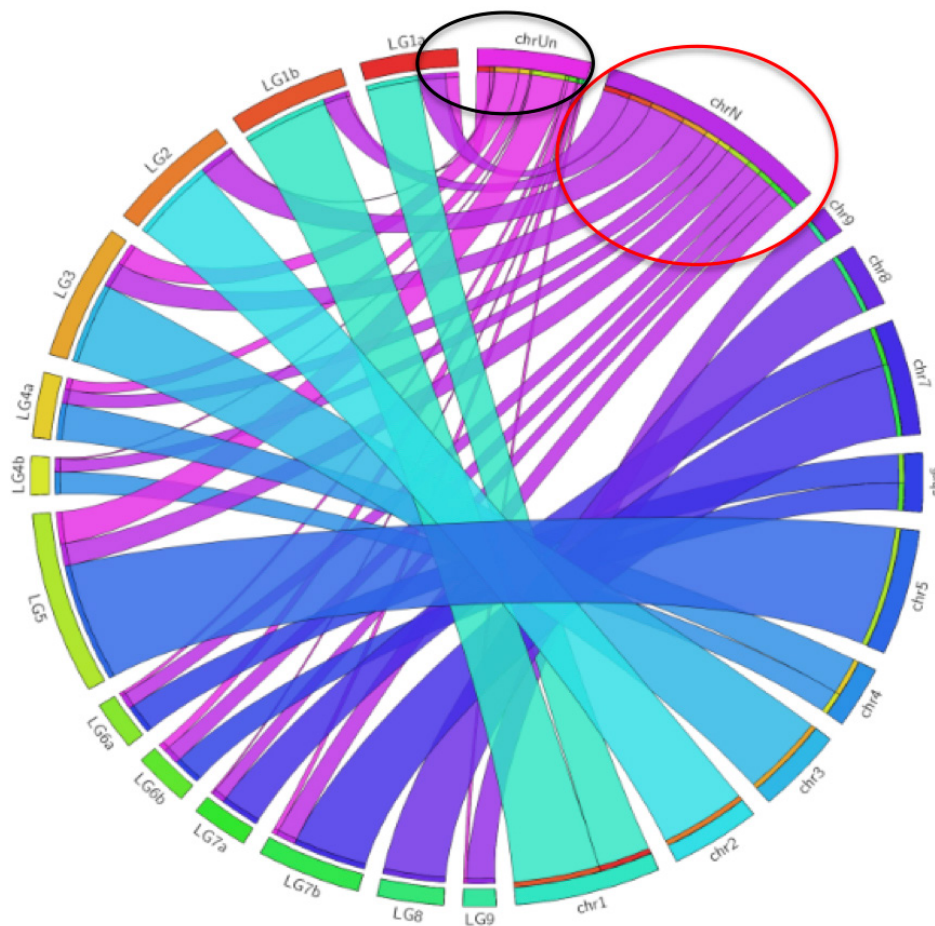


Figura 7. Sintenia entre marcadores moleculares SNPs-DArT nos grupos de ligação (LG) e os pseudos cromossomos (chr) de laranja doce (extraído de Curtolo et al., 2018).

Plataforma de Melhoramento Assistido

As atividades nessa plataforma focalizaram a produção e seleção de novas progênes de cruzamentos interespecíficos e, principalmente, a expansão da rede de avaliação de novos híbridos copa e porta-enxertos por meio do Programa Citricultura Nota 10 (Figura 8).

Este programa estabelece parcerias com produtores que permitem o plantio experimental de novos genótipos em avaliação em suas propriedades, acelerando assim as possibilidades que tais genótipos venham a ser adotados pelo setor citrícola.



Figura 8. Logomarca do Programa Citricultura Nota 10, parceria entre a pesquisa e produtores de citros no estado de São Paulo.

A extensiva avaliação de novos genótipos tem permitido a seleção de novas potenciais copa e porta-enxertos, que podem atender tanto a citricultura industrial quanto a citricultura de mercado de fruta fresca. Novos genótipos desafiados para estresse abióticos (tolerância à seca) ou bióticos têm mostrado o potencial genético do grupo e as possibilidades de introduzir cada vez mais inovação na produção. A Figura 9 ilustra o efeito da tolerância ou suscetibilidade do porta-enxerto em condições extremas de déficit hídrico sobre a copa.



Figura 9. A mesma copa enxertada sobre dois porta-enxertos híbridos do cruzamento de tangerina Sunki com *Poncirus trifoliata* (citrandarins) na região de Colombia (SP).

Um exemplo de uma nova cultivar copa é a tangerina IAC 2019Maria, obtida do cruzamento de tangor Murcott com laranja Pera. É a primeira cultivar protegida no Brasil (Figura 10).



Figura 10. Certificado de proteção da cultivar IAC 2019Maria obtida no programa de melhoramento do CCSM/IAC, apoiado pelo INCT Citros.

Considerações finais

O INCT Citros tem sido um projeto referência na pesquisa em todo o mundo. Não só pelas novas abordagens que introduziu na pesquisa, como sua vinculação do "básico ao aplicado" e sua condução

em rede. Ele representa esforço do grupo que se iniciou com projetos temáticos da FAPESP, do Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PADCT), do Programa de Apoio aos Núcleos de Excelência (Pro-nex) e do Instituto do Milênio. Ao abrir novas linhas de atuação na pesquisa com citros ampliou o conhecimento sobre a genética, genômica e interação com fatores bióticos e abióticos, formando recursos humanos qualificados e, produzindo novos genótipos que estarão renovando a citricultura brasileira no futuro próximo.

Especial agradecimento às agências que apoiaram e apoiam o INCT Citros, tornando-o com isso uma referência mundial em pesquisa direcionada à solução de problemas.

Agradecimentos

À FAPESP (Processos 2104/50880-0 e 2008/57909-2), CNPq (Processos 465440/2014-2 e 573848/2008-4) e Capes pelo apoio às atividades do INCT Citros. Ao Instituto Agrônomo (IAC) que deu amplo apoio à execução desse desafio.

Referências

ARENA, G. D.; RAMOS-GONZÁLEZ, P. L.; ROGÉRIO, L. A.; RIBEIRO-ALVES, M.;

CASTEEL, C. L.; ASTÚA, J. F.; MACHADO, M. A. Making a Better Home: Modulation of Plant Defensive Response by *Brevipalpus* Mites. *Frontiers in Plant Science*, 15 August 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01147>

CURTOLO, M.; SORATTO, T. A. T.; GAZAFFI, R.; TAKITA, M. A.; MACHADO, M. A.; CRISTOFANY-YALY, M. High-density linkage maps for *Citrus sunk* and *Poncirus trifoliata* using DArTseq markers. *Tree Genetics & Genomics* 14(1): 5-10. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1218-9>

DALIO, R. J. D.; MAXIMO, T. S.; DIAS, R. O.; BRETON, M. C.; FELIZATTI, H.; MACHADO, M. A. *Phytophthora parasitica* Effector PpRxLR2 Suppresses *Nicotiana benthamiana* Immunity. *MPMI* 31:

p. 481-493. 2018.

Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62856-5>

PACHECO, I. S.; GALDEANO, D. M.; MALUTA, N. K. P.; LOPES, J. R. S.; MACHADO, M. A. Gene silencing of *Dia-phorina citri* candidate effectors promotes changes in feeding behaviors. *Scientific Reports*, 10:5992. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62856-5>

WU, G. A.; PROCHNIK, S.; JENKINS, J.; et al. Sequencing of diverse mandarin, pummelo and orange genomes reveals complex history of admixture during citrus domestication. *Nature Biotechnology*, v. 32, p. 656-662, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nbt.2906>





Citricultura de mesa: variedades copa e porta-enxertos

Mariângela Cristofani-Yaly¹
Marinês Bastianel¹
Fernando Alves de Azevedo¹

Introdução

Como um dos principais produtores mundiais de citros, o Brasil ocupa o primeiro lugar na produção de laranja doce e de suco industrializado da fruta. Quando se separam os grupos de citros produzidos no Brasil, limas e limões e as tangerinas, o país se encontra no quinto e sexto lugar, respectivamente, segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2020).

A citricultura de mesa sempre foi menos expressiva em volume quando comparada ao mercado de suco e por muito tempo caracterizada como uma atividade que se utiliza basicamente de fruta não processada pela indústria.

Entretanto, sua importância no mercado nacional de frutas frescas tem ganhado relevância na fixação de pequenos e médios produtores no campo.

Tradicionalmente, o Brasil exporta suco de laranja e a própria fruta, limas, limões e, principalmente, as tangerinas são destinadas quase que na totalidade para o mercado interno. Porém, na última década, a lima ácida Tahiti vem se destacando como a fruta cítrica mais exportada in natura e a terceira fruta mais exportada pelo Brasil, com aproximadamente 90 mil t por ano, ficando atrás apenas da manga e do melão.

O consumidor brasileiro, assim como os demais, está cada vez mais exigente em frutas de qualidade, com sabor diferenciado. Na produção de frutas frescas, o porta-enxerto se torna ainda mais

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira", Corderópolis (SP). mariangela@ccsm.br; mbastianel@ccsm.br; fernando@ccsm.br

importante quando se busca agregar características de fruta. Até pouco tempo, pela sua rusticidade e resistência ao estresse hídrico, o limão Cravo liderava nos pomares brasileiros principalmente no estado de São Paulo. Atualmente, trifoliatas e seus híbridos, como os citrumeiros (híbridos de *Poncirus* com pomelo) e os citrandarins têm cada vez mais se destacado na citricultura. Estes últimos são híbridos de trifoliatas e tangerinas e têm sido um dos principais grupos de porta-enxertos em estudo no Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira" (CCSM) do Instituto Agrônômico (IAC).

Característica da citricultura de mesa no Brasil

No mercado de citros para fruta de mesa, a agregação de valor (qualidade, aparência, diversidade, entre outros) se torna um importante diferencial frente a outras frutas. Ao contrário da indústria, onde poucas variedades de laranja são processadas, as frutas para consumo in natura apresentam maior diversidade (variedades, coloração, formatos, sabores, entre outros) e incluem diferentes grupos de citros, além das laranjas.

Apesar do quadro varietal ainda estar muito restrito a frutas prioritariamente destinadas à indústria (laranjas Pera, Valência e Hamlin) e de poucas tangerinas, especialmente Ponkan e Murcott, nos

últimos anos tem ocorrido uma diversificação maior nas gôndolas dos mercados, o que não se observa nas indústrias.

Historicamente, o CCSM/IAC tem tido participação ativa no lançamento e na recomendação da maioria das variedades de laranjas, tangerinas e outros citros, cultivados no estado de São Paulo e no Brasil. Apostando na ampliação de nichos de mercado e nas exigências cada vez maior do consumidor, a instituição tem investido cada vez mais em um forte Programa de Melhoramento de Citros, incluindo variedades de copa e de porta-enxerto.

A expansão e o aceite de novas variedades, principalmente para fruta de mesa, representam os principais desafios do Programa de Citricultura de Mesa. Muitas variedades selecionadas já estão plantadas em pequena escala ou estão em validação no Programa da Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA): **Citricultura Nota 10, da Pesquisa para a Mesa**. A seguir, destacamos os principais grupos de citros para a mesa e algumas destas variedades.

Tangerinas e híbridos

As tangerinas fazem parte de um grupo com maior diversidade dentre os citros, pois englobam diferentes espécies, como as tangerinas comuns (*Citrus reticulata*, *C. unshiu*, *C. clementina*), mexericas (*C. deliciosa*) e muitos de seus

híbridos, como os tangores (tangerinas x laranjas) e os tangelos (tangerinas x pomelos). Pela facilidade de descasamento e separação de gomos são as preferidas para consumo in natura.

Dentre as tangerinas, a Ponkan é a mais importante variedade cultivada no estado de São Paulo seguido do tangor Murcott. Entretanto, a suscetibilidade destas à Mancha Marrom de *Alternaria* (MMA) tem acarretado em um maior interesse por novas variedades mais tolerantes ou resistentes. O manejo de MMA requer várias aplicações de fungicidas, em áreas com a presença do fungo. Além da IAC 2019Maria, a tangerina Cravo IAC 182, Dekopon IAC 2009 e Fremont IAC 543 são algumas variedades comerciais que agregam qualidade de fruta a tolerância à *Alternaria alternata*, fungo causador da MMA. Destacam-se ainda algumas seleções de Ponkan, do Banco Ativo de Germoplasma de Citros do IAC, de maturação precoce (Muscia IAC 607 e Span IAC 595) e tardia (Imperatriz IAC 565, De Wildt IAC 545 e Rosehaught Nartjee IAC 555), entre outras. Os tangores Ortanique IAC 554 e W Murcott também se destacam; o primeiro por ser um dos mais tardios dentre as variedades desse grupo e o segundo por se assemelhar à Murcott e ambos por serem sem sementes.

Novas variedades são selecionadas do Banco Ativo de Germoplasma de Citros e também por cruzamentos dirigidos; um dos maiores programas de obtenção de

novos híbridos por melhoramento clássico é desenvolvido no IAC. Deste, surgiu a tangerina IAC 2019Maria, um híbrido obtido do cruzamento entre o tangor Murcott e a laranja Pera, tolerante a MMA e a primeira variedade de tangerina totalmente brasileira, que começou a ser plantada em 2020. Outros híbridos tipo tangerina, deste e de outros cruzamentos, assim como clones *seedless* obtidos por mutações físicas induzidas, estão em processo final de seleção. Atualmente, mais de 150 acessos de tangerinas, incluindo comum, satsumas, clementinas, mexericas, tangores e tangelos, além de híbridos gerados no programa de melhoramento, estão a campo em ensaios de seleção.

A IAC 2019Maria é a primeira cultivar de tangerina 100% obtida no Brasil, isto é, foi desenvolvida em 20 anos de pesquisa no IAC e recebeu um nome bastante representativo do País. Esta nova tangerina é também a primeira cultivar de citros do IAC protegida no Sistema Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e licenciada para viveiristas. Apesar de as tangerinas formarem o grupo mais importante de frutas de mesa consumidas no mercado nacional, até então tudo que se vende nas gôndolas são cultivares introduzidas no Brasil ou originadas de mutação. Para o setor de produção, o principal destaque desta nova cultivar é a resistência à MMA, doença que tem onerado os custos de

produção e reduzido significativamente a produção dos pomares. Com essa característica de resistência, a IAC 2019Maria causa menor impacto ambiental, por diminuir ou até eliminar a necessidade de pulverização e reduzir os custos de produção. Além dessas vantagens, suas características agregam valor ao fruto, tais como menor número de sementes, coloração intensa e tamanho do fruto.

O grupo das mexericas apresentam grande vantagem, que é a resistência à mancha marrom de alternaria.

Apesar de ainda ser restrita a poucas regiões do estado, nota-se um aumento no interesse em variedades, principalmente para ampliar o período de safra. Além da mexerica Rio e Montegrina, as principais variedades plantadas, os plantios podem ser ampliados com Mogi das Cruzes IAC 606 e Victória IAC 580, variedades de maturação precoce (maio a junho) ou Tardia da Sicília IAC 589 e Late IAC 585, variedades tardias (agosto a setembro), todas selecionadas do BAG Citros IAC, dentre outras.



Figura 1. Plantio adensado de tangerina Fremont (A) e tangerina IAC 2019Maria (B), em Capão Bonito (SP).

Laranjas doce

Apesar de taxonomicamente pertencer a uma mesma espécie (*C. sinensis*), as laranjas englobam quatro principais grupos, com características peculiares a cada um, que apesar de possuírem cascas aderidas, os torna aptos tanto para suco (concentrado congelado - FCOJ ou não concentrado e não congelado - NFC) como fruta de mesa. A seguir são descritos os principais grupos, suas características e as principais variedades comerciais. Além dessas, mais de 300 acessos de laranjas do BAG e híbridos com características de laranja selecionados no programa de melhoramento estão em campo no CCSM/IAC para seleção de novas variedades.

a) Laranjas comuns: ricas em suco, são destinadas à indústria, à produção de suco doméstico e ao consumo in natura. A laranja Pêra é a variedade mais importante da citricultura brasileira. Os seus frutos, preferidos para a fabricação de suco, também possuem excelente aceitação nos mercados internos e externos de fruta in natura. Outras variedades do mesmo padrão que se destacam são as laranjas Westin IAC 115, Rubi IAC 52, Valência Americana, de maturação precoce, Valência IAC, Folha Murcha IAC e Charmute de Brotas IAC 2007, de maturação tardia.

b) Laranjas de baixa acidez: variedades deste grupo são essencialmente adequadas ao consumo de mesa, com grande aceitação devido à baixa acidez, por idosos e crianças. Nesse grupo, destacam-se a Lima Sorocaba, a Lima Verde

IAC e a Lima Tardia IAC.

c) Laranjas de umbigo: também conhecidas como Baía, não apresentam sementes, característica cada vez mais desejada nas variedades destinadas para consumo como fruta fresca. Fazem parte deste grupo Navelina, Baía Cabula, Baianinha, Lanelate e Navelate, entre outras. Nesse grupo, novas variedades tardias e precoces, como a Robertson Navel IAC 39 (precoce) vem sendo validadas em ensaios comparativos no campo.

d) Laranjas pigmentadas: englobam dois grupos de laranjas ainda pouco conhecidos comercialmente no Brasil, mas com grande potencial de exploração, as laranjas de polpa vermelha e as sanguíneas. Ambas apresentam elevados teores de carotenoides (carotenos, licopenos, xantinas e outros), em comparação com as laranjas amarelas. Estas variedades e seus produtos derivados poderão ter um forte apelo comercial, pois os carotenoides apresentam funções nutracêuticas. Se destacam nos estudos conduzidos atualmente pelo IAC as variedades de polpa vermelha Baía Cara Cara, Vermelha Precoce IAC, Sanguínea de Mombuca IAC 93 e as sanguíneas Tarocco, Moro e Sanguinelli, estas últimas introduzidas da Itália e selecionadas no Banco Ativo de Germoplasma de Citros do IAC.

Limões e limas ácidas

Apesar de comumente serem referenciados no mesmo grupo, tratam-se de espécies com características bem distintas. Os limões (*C. limon*) são

popularmente conhecidos também como limões verdadeiros e são consumidos preferencialmente maduros, com a casca amarelada. Já dentre as limas ácidas, se destaca o Tahiti (*C. latifolia*) e o limão galego (*C. aurantiifolia*), esse pouco produzido no Brasil. Em menor escala temos o limão Cravo (*C. limonia*), conhecido como limão cavalo, vinagre ou rosa e utilizado também como porta-enxerto.

A lima ácida Tahiti tem posição de destaque na citricultura brasileira em função da demanda crescente dos mercados interno e externo. Da industrialização dos frutos, além do suco, podem ser obtidos óleos essenciais e a pectina que alcançam alto valor comercial. Destacam-se as variedades IAC-5, do IAC e BRS Ponta Firme, da Embrapa.

As variedades copas de lima ácida Tahiti mais difundidas no estado de São Paulo são o IAC 5 e o IAC 304, também chamado de Peruano e Quebra-galho, respectivamente. O IAC 5 é muito produtivo e apresenta tolerância ao vírus da tristeza e aos viroides da exocorte. Já o Quebra-galho é infectado pela exocorte e apresenta menor porte. Salienta-se que não está previsto na legislação a produção de muda certificada/fiscalizada de Quebra-galho nos viveiros de São Paulo.

Recentemente, a Embrapa e a Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro desenvolveram o BRS Ponta-Firme, variedade já presente nos pomares, em fase de registro no MAPA. Segundo pesquisas, é muito produtiva, com frutos rugosos e ovalados. Outra copa que está em fase de

registro é o Tahiti IAC-10, da família do IAC-5, oriunda de pesquisas desenvolvidas pelo IAC. É uma variedade tão produtiva quanto o BRS Ponta-Firme e ambas mais produtivas que o Tahiti IAC-5. Os frutos são arredondados e com casca rugosa. Outra característica dessas novas copas é que são menos vigorosas que o IAC-5, atendendo demanda do setor por plantas menores, o que é facilmente alcançando com o uso de porta-enxertos ananizantes.

Tem se observado aumento na comercialização de limões no Brasil e maior demanda por novas variedades. Estudos recentes conduzidos no CCSM/IAC indicam novas variedades potenciais para plantio dentre os limões. Hoje, o Siciliano IAC 262 é a principal variedade comercial. Dentre mais de 40 acessos do BAG em avaliação, o São Matheus IAC 265 e Woglum IAC 271 se destacam por apresentarem porte reduzido, em relação à copa do Siciliano IAC 262 e alta produtividade. Apesar destes dados serem preliminares por se tratar de um pomar jovem, este estudo certamente trará informações relevantes de novas variedades, contribuindo a médio e longo pr

azos para a diversificação e crescimento da cultura do limão na citricultura paulista.

Referências

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crops Production. 2018. Disponível em : <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 23 Julho 2020.



Clorose Variegada e Cancro Cítrico: estratégias biotecnológicas e genômicas para manejo sustentável

Alessandra Alves de Souza¹
Paula Maria Moreira Martins¹
Natália Sousa Teixeira-Silva¹
Helvecio Della Coletta-Filho¹

Introdução

A citricultura brasileira sempre enfrentou desafios fitossanitários quando se trata de doenças causadas por bactérias. Duas das doenças mais antigas da citricultura paulista são o Cancro Cítrico (CC), reportado pela primeira vez em 1957 e a Clorose Variegada dos Citros (CVC) em 1987. Mais adiante, em 2004, foi a vez do *Huanglongbing* - HLB, também conhecido por *greening*. Nesse texto iremos abordar resultados de trabalhos desenvolvidos no Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira", do Instituto Agronômico (IAC) visando o controle mais sustentável da CVC e

do Cancro, uma vez que há mais resultados de pesquisa sobre estes patossistemas. Trabalhos em relação ao HLB estão sendo priorizados em nossas pesquisas.

A CVC é causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* atualmente reclassificada como *X. fastidiosa* subsp. *pauca* que é transmitida por ao menos 13 espécies de cigarrinhas pertencentes as famílias Cicadellidae e Cercopoidea. Essa fitobactéria é capaz de causar doenças em mais de 100 espécies de plantas, incluindo muitas culturas de importância econômica como citros (principalmente laranjeiras doce), uva, café, ameixa, amêndoa, entre outras (Almeida e Nunney, 2015). Até muito recentemente, esse fitopatógeno causava danos às culturas apenas nas Américas; no entanto, em 2013, foi constatada como

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira", Cordeirópolis (SP). desouza@ccsm.br; hdcoletta@ccsm.br

causador da síndrome do declínio rápido das oliveiras, uma doença responsável pela morte de milhares de plantas no sul da Itália. Desde então, a bactéria foi encontrada em outros países do continente europeu, principalmente na região mediterrânea da França, Espanha e Portugal, sendo motivo de grandes preocupações em relação à segurança alimentar na União Europeia. No Brasil a CVC é considerada uma doença endêmica estando presente em todos os estados que têm cultivo comercial de laranja doce. Entre 2009 e 2012, segundo dados de levantamento realizado pela Fundecitrus, cerca de 35% das plantas do parque citrícola paulista estavam com algum tipo de sintomas de CVC. Porém, a partir daquele último levantamento houve uma queda significativa na incidência da CVC, atingindo em 2018, cerca de 2,5% das plantas. Dentre as ações de manejo que vêm sendo adotadas a utilização de mudas livres do patógeno produzidas dentro de um sistema de certificação (em vigor em São Paulo desde 2003) e o controle do vetor (intensificado após a constatação do HLB em 2004), contribuíram significativamente para a redução da contaminação natural das laranjeiras com *X. fastidiosa*. Há de se mencionar que cerca de 90% do parque citrícola paulista foi implantado após 2003 (PES, 2019), portanto sendo relativamente novo.

O Cancro Cítrico é uma das doenças mais antigas da citricultura, sendo

endêmica da Ásia e causada pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. A doença está presente na maioria das regiões produtoras de citros no Brasil, com exceção dos estados do Nordeste. A bactéria é facilmente disseminada dentro de pomares através da ação do vento espalhando gotículas de água contendo o inóculo, inclusive por operações agrícolas. A longas distâncias a disseminação ocorre principalmente por meio de transporte de material vegetal contaminado (Graham et al., 2004). As medidas de controle adotadas para o Cancro Cítrico são, usualmente, aplicações de cobre nos pomares, controle da larva-minadora em regiões com histórico de ocorrência do Cancro e uso de quebra-vento com intuito de diminuir a velocidade do vento, minimizando os danos mecânico às folhas e frutos, porta de entrada da bactéria. O principal defensivo agrícola usado no manejo de áreas endêmicas é o cobre. Os compostos a base de cobre atuam de forma protetiva, mas com baixa ou quase nenhuma ação curativa (Behlau et al., 2010; 2017). Apesar de sua atividade antimicrobiana, o uso contínuo e excessivo do cobre pode trazer impactos negativos ao meio ambiente e para a planta, reduzindo o desenvolvimento (Hippler et al., 2017). Além disso, o uso excessivo do cobre acarreta no desenvolvimento de estirpes de *Xanthomonas* resistentes a esse composto, o que pode impactar diretamente no manejo

efetivo da doença (Behlau et al., 2011; Gochez et al., 2018).

Diante do exposto acima, torna-se imprescindível o uso de novas tecnologias mais sustentáveis para manter a citricultura como uma das principais commodities agrícolas do país. Nesse texto apresentamos algumas tecnologias desenvolvidas pelo CCSM/IAC na área de biotecnologia e fitossanidade visando o controle dessas bacterioses.

Uso do N-acetilcisteína: um análogo da cisteína bom para saúde humana e sanidade vegetal

Embora as bactérias causadoras do Cancro Cítrico e da CVC sejam pertencentes a espécies distintas, elas compartilham similaridades quanto ao seu genoma, cujos genes e mecanismos de virulência, podem ser alvos para uma estratégia de controle comum. Tanto a *X. fastidiosa* (CVC) quanto a *X. citri* (CC) são capazes de se organizar em estruturas complexas, com múltiplas células, chamadas de "biofilmes", estrutura muito importante no ciclo de vida destas bactérias (Figuras 1 e 2). Biofilmes são estruturas nas quais as bactérias se organizam na forma de "comunidade". Quando em biofilme, as células bacterianas resistem mais à dessecação decorrente do excesso de calor e também à aplicação de compostos antimicrobianos.

Uma molécula, há muito já empregada na medicina, tem essa capacidade de "quebrar" o biofilme das bactérias. A molécula N-acetilcisteína (NAC) é análoga ao aminoácido cisteína e não apresenta toxicidade ao organismo humano, sendo, portanto, seguro para ser utilizado (Aldini et al., 2018). Além disso, o NAC é um potente antioxidante, diminuindo o estresse oxidativo e consequentemente melhorando o desempenho do metabolismo geral do organismo. Foi seguindo este mesmo princípio que o NAC vem sendo utilizado para desestruturar o biofilme formado pelas bactérias causadoras da CVC e do CC (Muranaka et al., 2013; Picchi et al., 2015).

Inicialmente avaliado para CVC, o NAC mostrou-se eficiente para desobstruir os vasos de xilema afetados pela *X. fastidiosa*. Esta bactéria, após estabelecida no interior destes vasos começa a se movimentar e produzir biofilmes, os quais vão colonizando e ocupando o espaço do interior do xilema. Como estes vasos são responsáveis pelo transporte de água e sais minerais, da raiz ao restante da planta, obstruções causam efeitos negativos às plantas, principalmente quanto ao desenvolvimento vegetativo. Experimento em condições de casa-de-vegetação mostrou que o NAC, em formulação entregue via raiz, resultou em melhorias no aspecto geral

da planta, propiciando suporte ao seu crescimento e desenvolvimento, mesmo quando a aplicação foi realizada após o aparecimento de sintomas (Figura 3). Acredita-se que o NAC, além do efeito sobre a *X. fastidiosa*, também causou a desestruturação do biofilme possibilitando maior eficiência no fluxo de xilema.

A ausência de produtos capazes de controlar bacterioses em campo, e os resultados obtidos com NAC para o controle da CVC impulsionaram a avaliação de sua eficácia para o controle do CC. O ciclo da doença causada pela *X. citri*, se diferencia em vários aspectos daquele observado em *X. fastidiosa*, principalmente o local no qual a bactéria se localiza. Se na CVC a bactéria obstrui os vasos de xilema, no CC se caracteriza por lesões eruptivas que ocorrem em ramos, frutos e folhas (Figura 2). Mesmo na superfície da folha o biofilme é uma importante etapa no ciclo de disseminação de *X. citri*, já que é somente após o estabelecimento desta estrutura que a bactéria penetra mais eficientemente no tecido vegetal resultando no processo patológico da cancriose. O NAC mostrou-se bastante eficiente como uma estratégia no manejo do CC (Figura 4) inclusive quando comparando ao uso de cobre (De Souza et al., 2017).

Os benefícios do uso do NAC vão além do seu potencial antimicrobiano. Devido às características de sua molécula, a aplicação do NAC auxilia na manutenção de baixo estresse oxidativo nas plantas, o que ocasiona uma melhora geral em suas condições de saúde e de resposta imune a doenças. A utilização do NAC na agricultura foi patenteada pelo IAC (PI 1101176) e licenciada para Startup CiaCamp (da Ciência ao Campo). A CiaCamp foi a primeira Startup do IAC, sendo fundada pela ex pós-doc do CCSM/IAC, Dra. Simone Picchi, que trabalhou com as pesquisas envolvendo o NAC. Da necessidade de transferir essa tecnologia ao setor produtivo nasceu a CiaCamp, que vem sendo apoiada no Programa PIPE-FAPESP, nas fases 1, 2 e estando em curso a fase 3, na qual está sendo iniciado o processo de registro dos produtos para controle da CVC e Cancro Cítrico no campo. É importante lembrar que o estudo do NAC foi iniciado após o projeto genoma da *X. fastidiosa*, uma iniciativa ousada da FAPESP em 2000 (Simpson et al., 2000), sendo um exemplo claro de como a pesquisa básica é necessária para se chegar a aplicada com a transferência de tecnologia ao setor produtivo (<https://revistapesquisa.fapesp.br/2019/02/11/remedio-para-as-laranjeiras/>).

Uso da Engenharia Genética para obtenção de plantas resistentes a CVC e ao Cancro Cítrico

Genes derivados do patógeno

A segunda estratégia adotada pelos pesquisadores do CCSM/IAC, a partir do estudo dos genomas dos citros (Wu et al., 2014), da *X. fastidiosa* (Simpson et al., 2000), da *X. citri* (da Silva et al., 2002) e da interação destes organismos durante o desenvolvimento das respectivas doenças, é o desenvolvimento de plantas de laranja doce mais resistentes a ambas as doenças.

Ao longo de 10 anos de estudos científicos, o grupo descobriu uma forma de “enganar” as bactérias. Todo este processo foi realizado com o uso de técnicas de biotecnologia, onde um gene da própria bactéria foi geneticamente transferido para variedades comerciais de laranja doce: Hamlin e Valência. Este gene, chamado *rpffF*, produz uma enzima que gera um ácido graxo (molécula do grupo dos lipídeos) chamado DSF. O DSF está envolvido na comunicação entre as bactérias em um processo conhecido por “*quorum sensing*”, que ocorre no biofilme formado por estas bactérias. A quantidade de DSF no meio externo controla a capacidade das bactérias em formar biofilme e sinalizam o quanto sua população ainda precisa crescer e se dividir. A estratégia utilizada é conhecida como

“confusão do patógeno”, e faz com que a molécula produzida pela planta atrapa-lhe a comunicação entre as bactérias que usam o DSF como “*quorum sensing*”, que é o caso da *X. fastidiosa* e *X. citri*. Estando o DSF presente nas plantas as bactérias se locomovem menos e entendem que suas populações na planta já estão suficientemente altas. Assim, elas não se multiplicam como deveriam e os sintomas são atenuados ou até mesmo inexistentes.

Os trabalhos pioneiros na citricultura brasileira foram publicados em revistas internacionais em 2014 e, capa da revista *Molecular Plant-Microbe Interaction* em 2017 (Caserta et al., 2014; 2017). Atualmente, plantas das duas variedades de laranja doce produzidas pelo CCSM/IAC se encontram em fase de testes em campo e vem apresentando ótimo desenvolvimento (Figura 5). Nos últimos dois anos, vêm sendo desenvolvidos porta-enxertos que produzem o mesmo gene *rpffF*. O objetivo dos pesquisadores agora é verificar se a molécula de DSF produzida pelo gene *rpffF* expresso no porta-enxerto seria transcolada para a parte aérea da planta (copa), sendo esta não transformada geneticamente. Nesta estratégia, as copas teriam a mesma capacidade em lidar com as bactérias em uma eventual contaminação. O porta-enxerto da variedade Carrizo, amplamente utilizado em ensaios em laboratório, foi gerado e

vem demonstrando resistência a ambos os patógenos. Dando prosseguimento a esta linha, porta-enxerto de variedade comercial, como Swingle, está sendo produzido para futuros testes.

Genes derivados de citros

Dentre as variedades de citros, a tangerina Ponkan (*Citrus reticulata*) é considerada resistente à CVC e é também menos susceptível ao Cancro Cítrico (Rodrigues et al., 2013; Carvalho et al., 2015). Baseado nesse conhecimento, o perfil de expressão de genes diferencialmente expressos em plantas de Ponkan foi analisado por técnicas de expressão gênica global pelo grupo do CCSM/IAC (De Souza et al., 2007; Rodrigues et al., 2013). Os resultados revelaram um número significativo de genes presentes na tangerineira que poderia ser transferido para laranja doce, por meio de técnicas de engenharia genética. Essa abordagem é bem interessante, pois como as tangerinas são sexualmente compatíveis com laranjas, ou seja, pode haver cruzamento natural no campo. Assim, a transferência de genes por engenharia genética apenas acelera um processo que pode ocorrer naturalmente no meio ambiente, o qual produz resultados que levariam anos para serem avaliados e a progênie selecionada. Ainda, visando selecionar os genes mais promissores para

serem transferidos para laranja doce, os pesquisadores desenvolveram um sistema de *screening* rápido que transfere os genes previamente selecionados para a planta modelo conhecida como *Arabidopsis thaliana*, abreviando 18 meses de trabalho (Pereira et al., 2019). Os primeiros resultados das plantas de laranja doce contendo gene de tangerina foram publicados recentemente (Pereira et al., 2020). Neste trabalho os pesquisadores verificaram que um gene de tangerina (fator de transcrição) que é ativado quando o patógeno entra na planta, e então ativa o sistema de defesa vegetal, foi capaz de promover alto nível de resistência a *X. fastidiosa*. Como o sistema de defesa vegetal é conservado para muitos patógenos, outros fitopatógenos estão em fase de teste para verificar uma possível resistência em amplo espectro. Atualmente o grupo do CCSM/IAC possui um portfólio de genes promissores de tangerina para serem transferidos para citros. Plantas contendo genes que codificam para receptores de percepção do patógeno e genes responsáveis pela ativação de resistência sistêmica adquirida já estão em fase de testes e apresentando resultados promissores para as três bacterioses dos citros. Além disso portfólio de genes oriundos de *Poncirus trifoliata* para edição gênica pela técnica de CRISPR também estão em andamento.

Considerações finais

É importante ressaltar que para todos os dados aqui apresentados, a fase inicial de pesquisa básica foi essencial para compreensão da interação do patógeno com os hospedeiros e identificação dos genes envolvidos com a resistência da planta. Apenas após os dados obtidos a partir do sequenciamento dos genomas das bactérias causadoras da CVC e do Cancro Cítrico é

que tanto o uso do NAC quanto o conhecimento da comunicação celular (por DSF) foi possível de ser, primeiramente idealizado e, em seguida, concretizado.

Todas essas estratégias acima utilizadas, baseadas em tecnologias de ponta, estão sendo usadas para uma agricultura com menor custo de produção, com sustentabilidade ambiental, social e econômica.

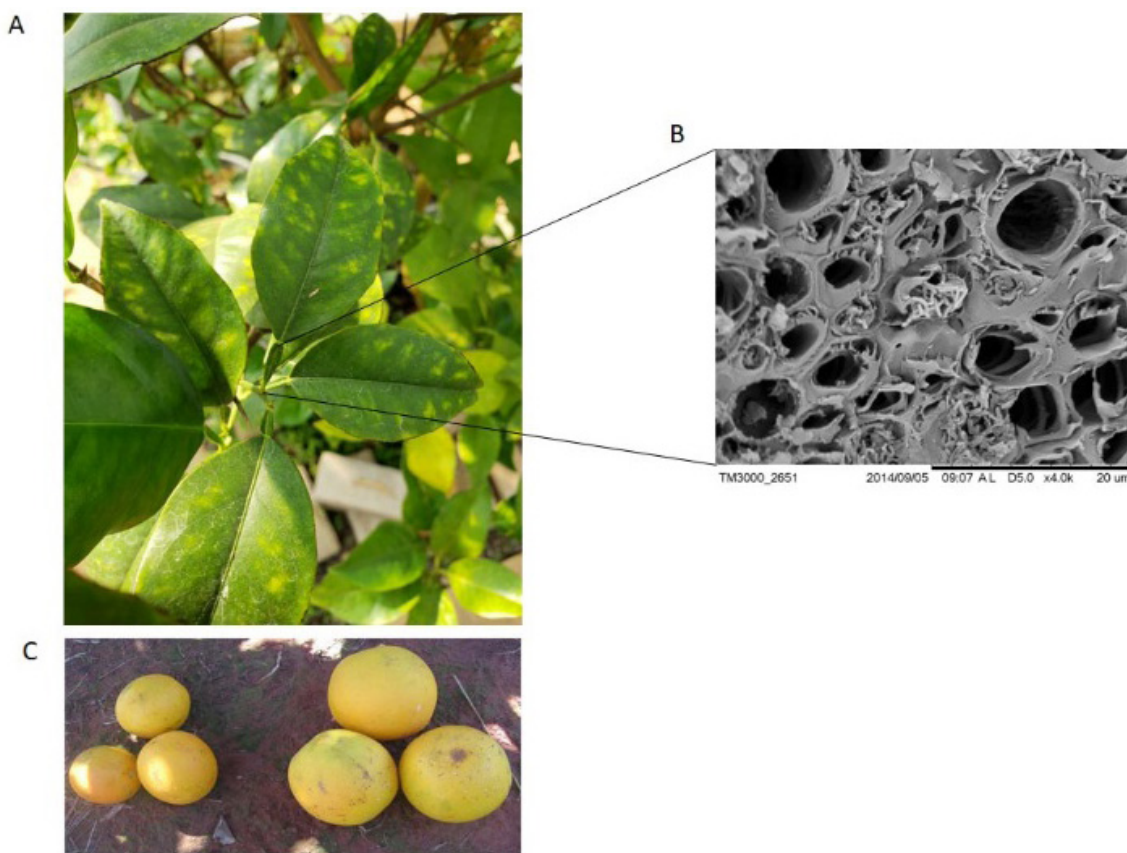


Figura 1. Sintomas de clorose variegada dos citros e biofilme formado por *Xylella fastidiosa* (A). Sintomas na folha (B). Biofilme no interior dos vasos do xilema (C). Sintomas em frutos (esquerda) comparado a frutos saudáveis (direita).

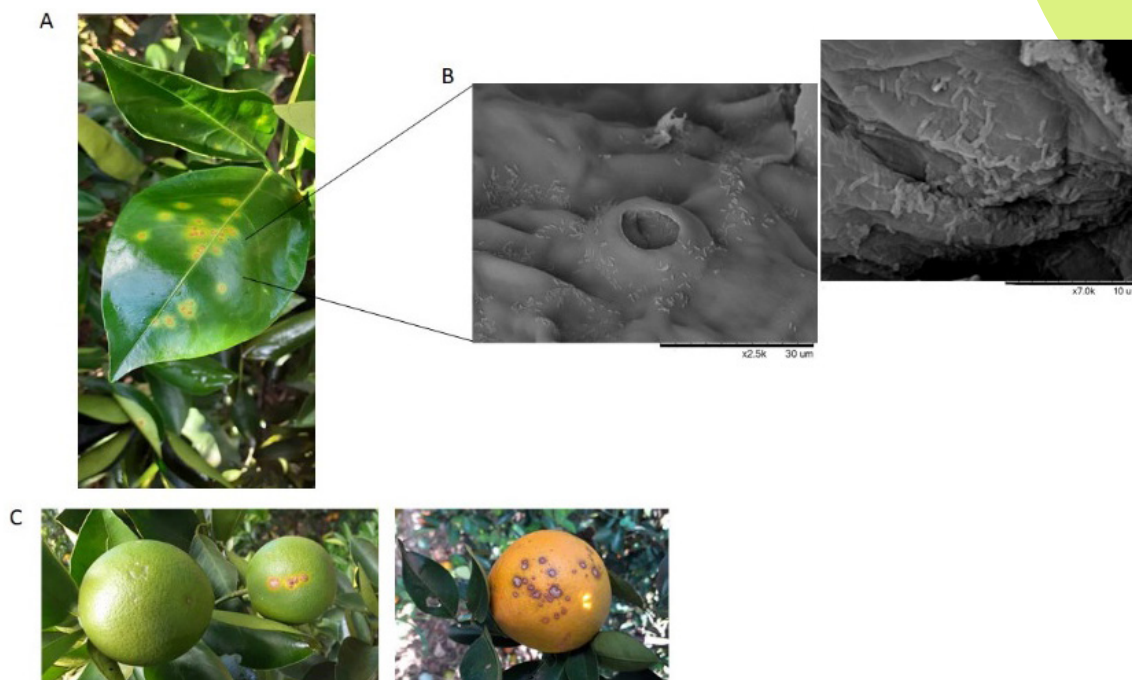


Figura 2. Sintomas de Cancro Cítrico e biofilme formado por *Xanthomonas citri* (A). Sintomas na folha (B). Início (direita) e fase avançada (esquerda) da formação de biofilme na superfície da folha. Sintomas inicial e avançado no fruto (C).



Figura 3. Plantas com CVC tratadas (A) e não tratadas (B) com N-acetilcisteína. As fotos foram tiradas 6 meses após 2 aplicações de NAC via solo.



Figura 4. Plantas previamente pulverizadas com *Xanthomonas citri* e posteriormente tratadas (A) e não tratadas (B) com N-acetilcisteína. As fotos foram tiradas 7 dias após aplicação de NAC por pulverização.



Figura 5. Avaliação em campo das plantas geneticamente modificadas para resistência a patógenos e outras características de interesse agrônomo.

Referências

- ALDINI, G.; ALTOMARE, A.; BARON, G.; VISTOLI, G.; CARINI, M.; BORSANI, L.; SERGIO, F. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radical Research*, v. 52, n. 7, p. 751-762, 2018. DOI: 10.1080/10715762.2018.1468564.
- BEHLAU, F.; AMORIM, L.; BELASQUE JUNIOR, J.; BERGAMIN FILHO, A.; LEITE JÚNIOR, R. P.; GRAHAM, J. H.; GOTTFWALD, T. R. Annual and polyetic progression of citrus canker on trees protected with copper sprays. *Plant Pathology*, v. 59, p. 1031-1036, 2010.
- BEHLAU, F.; CANTEROS, B. I.; MINSAVAGE, G. V.; JONES, J. B.; GRAHAM, J. H. Molecular characterization of copper resistance genes from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas alfae* subsp. *citrumelonis*. *Applied Environmental Microbiology*, v. 77, p. 4089-4096, 2011.
- BEHLAU, F.; SCANDELA, L. H. M.; DA SILVA JUNIOR, G. J.; LANZA, F. E. Soluble and insoluble copper formulations and metallic copper rate for control of citrus canker on sweet orange trees. *Crop Protection*, v. 94, p. 185-191, 2017.
- CARVALHO, S.; CARVALHO NUNES, W. M. de; BELASQUE-JÚNIOR, J.; MACHADO, M. A.; CROCE-FILHO, J.; BOCK, C. H.; ABDO, Z. Comparison of resistance to asiatic citrus canker among different genotypes of citrus in a long-term canker-resistance field screening experiment in Brazil. *Plant Disease*, v. 99, p. 207-218, 2015.
- CASERTA, R.; PICCHI, S. C.; TAKITA, M. A.; TOMAZ, J. P.; PEREIRA, W. E. L.; MACHADO, M. A.; IONESCU, M.; LINDOW, S.; DE SOUZA, A. A. Expression of *Xylella fastidiosa* RpfF in citrus disrupts signaling in *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and thereby its virulence. *Mol Plant Microbe Interact*, v. 27, p. 1241-1252, 2014.
- CASERTA, R.; SOUZA-NETO, R. R.; TAKITA, M. A.; LINDOW, S. E.; DE SOUZA, A. A. Ectopic Expression of *Xylella fastidiosa* *rpfF* Conferring Production of Diffusible Signal Factor in Transgenic Tobacco and Citrus Alters Pathogen Behavior and Reduces Disease Severity. *Mol Plant Microbe Interact*, v. 30, n. 11, p. 866-875, 2017.
- DA SILVA, A. C. R.; FERRO, J. A.; REINACH, F. C.; FARAH, C. S.; FURLAN, L. R.; et al. Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nature*, v. 417, p. 459-463, 2002.
- DE SOUZA, A. A.; TAKITA, M. A.; COLETTA-FILHO, H. D.; CAMPOS, M. A.; TEIXEIRA, J. E. C.; TARGON, M. L. P. N.; CARLOS, E. F.; RAVASI, J.R.; FISCHER, C. N.; MACHADO, M. A. Comparative analysis of differentially expressed sequence tags of sweet orange and mandarin infected with *Xylella fastidiosa*. *Genetic Molecular Biology*, v. 30, p. 965-971, 2007.
- DE SOUZA, A. A.; TAKITA, M. A.; COLETTA-FILHO, H. D.; CAMPOS, M. A.; TEIXEIRA, J. E. C.; TARGON, M. L. P. N.; CARLOS, E. F.; RAVASI, J.R.; FISCHER, C. N.; MACHADO, M. A. Comparative analysis of

differentially expressed sequence tags of sweet orange and mandarin infected with *Xylella fastidiosa*. Genetic Molecular Biology, v. 30, p. 965-971, 2007.

DE SOUZA, A. A.; PICCHI, S. C.; COLETTA-FILHO, H. D. NAC: Uma alternativa no manejo do Cancro Cítrico. Citricultura Atual - Revista do Grupo de Consultores em Citros GCONCI, Cordeirópolis, p. 14-16, 2017.

GOCHEZ, A. M.; HUGUET-TAPIA, J. C.; MINSAVAGE, G.V.; SHANTARAJ, D.; JALAN, N.; STRAUB, A.; et al. Pacbio sequencing of copper-tolerant *Xanthomonas citri* reveals presence of a chimeric plasmid structure and provides insights into reassortment and shuffling of transcription activator-like effectors among *X. citri* strains. BMC Genomics, v. 19, p. 16, 2018.

HIPPLER, F. W. R.; BOARETTO, R. M.; QUAGGIO, J. A.; MATTOS JUNIOR, D. Copper in Citrus production: required but avoided. Citrus R&T, v. 38, n. 1, p. 99-106, 2017.

MURANAKA, L. S.; GIORGIANO, T. E.; TAKITA, M. A.; FORIM, M. R.; SILVA, L. F. C.; COLETTA-FILHO, D. H.; MACHADO, M. A.; DE SOUZA, A. A. N-Acetylcysteine in agriculture, a novel use for an old molecule: focus on controlling the plant-pathogen *Xylella fastidiosa*. PLoS One. 2013 Sep 20, 8(9):e75247.2013.

PEREIRA, W. E. L.; FERREIRA, C. B.; CASERTA, R.; MELOTTO, M.; DE SOUZA, A. A. *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* and *fastidiosa* Colonize Arabidopsis Systemically

and Induce Anthocyanin Accumulation in Infected Leaves. Phytopathology, v. 109, n. 2, p. 225-232, 2019.

PEREIRA, W. E. L.; TAKITA, M. A.; MELOTTO, M.; DE SOUZA, A. A. *Citrus reticulata* CrRAP2.2 Transcriptional Factor Shares Similar Functions to the Arabidopsis Homolog and Increases Resistance to *Xylella fastidiosa*. Mol Plant Microbe Interact, MPMI-10-19-0298-1, 2020.

PES <https://www.fundecitrus.com.br/pes/estimativa>

PICCHI, S. C.; TAKITA, M. A.; COLETTA-FILHO, H. D.; MACHADO, M. A.; DE SOUZA, A. A. N-Acetylcysteine interferes with the biofilm formation, motility and epiphytic behaviour of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Plant Pathol. DOI: 10.1111/ppa.12430. 2015.

RODRIGUES, C. M.; DE SOUZA, A. A.; TAKITA, M. A.; KISHI, L. T.; MACHADO, M. A. RNA-Seq analysis of *Citrus reticulata* in the early stages of *Xylella fastidiosa* infection reveals auxin-related genes as a defense response. BMC Genomics, v. 14, p. 676, 2013.

SIMPSON, A. J.; REINACH, F. C.; ARRUDA, P.; ABREU, F. A.; ACENCIO, M.; et al. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. Nature, v. 406, p. 151-157, 2000.

WU, G. A. P; et al. Sequencing of diverse mandarin, pummelo and orange genomes reveals complex history of admixture during citrus domestication. Nature Biotechnology (Print). v. 32, p. 546, issn: 1087-0156, 2014.



Citros geneticamente modificados: potencial de edição de genoma

Laís Moreira Granato¹
Maiara Curtolo¹
Marco Aurélio Takita¹

Introdução

O Centro Avançado de Pesquisa de Citros “Sylvio Moreira” (CCSM/IAC) é internacionalmente reconhecido pelo seu programa de melhoramento genético, que explora diversas características das espécies, incluindo resistência a pragas e doenças, visando disponibilizar novas variedades para o setor citrícola.

Contudo, o melhoramento genético de citros clássico é limitado, principalmente, devido à sua estreita base genética, além dos desafios inerentes a uma planta lenhosa perene e com poliembrião adventícia nucelar. Por este motivo, pesquisadores do Laboratório de Biotecnologia do CCSM/IAC vem utilizando métodos de engenharia genética para modificar o

DNA de plantas de citros. Durante bastante tempo, foram utilizadas tentativas de superexpressão de genes com a integração genômica estável por meio da transformação mediada por *Agrobacterium*. No entanto, com a descoberta de novas técnicas de melhoramento (NBT, do inglês, *New Breeding Techniques*), vem se aprimorando a inserção, silenciamento ou remoção das características desejadas com maior precisão e rapidez.

Novas técnicas de melhoramento

As novas técnicas incluem a revolucionária ferramenta CRISPR/Cas9 (Figura 1) que tem sido extensivamente explorada em diferentes modelos, desde bactérias até seres humanos, com a famosa terapia gênica. Diante disso, também as plantas começaram

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Citros “Sylvio Moreira, Cordeirópolis (SP). marco.takita@ccsm.br

a ser utilizadas como objeto para trabalhos com esta nova tecnologia, para análise de função genética e para

melhoramento de características agronômicas.

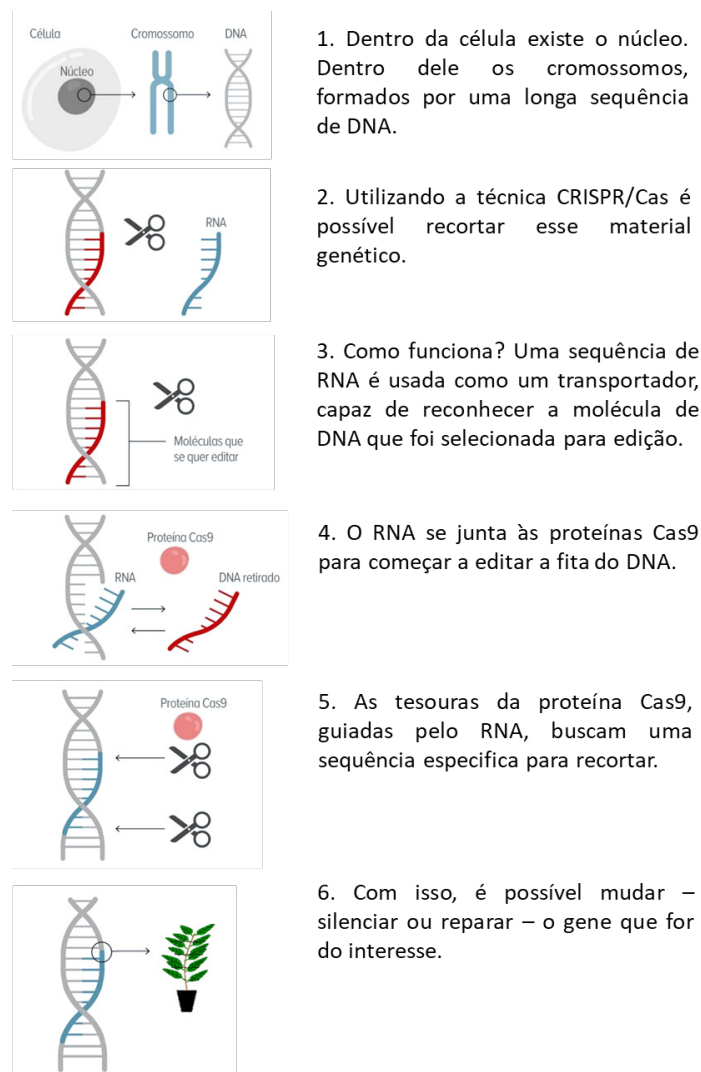


Figura 1. Entenda o CRISPR. Fonte: Adaptado de Betta Jaworski/G1.

Esta tecnologia teve seu desenvolvimento a partir do conhecimento sobre um mecanismo de defesa das bactérias, para se protegerem contra vírus invasores. Ela é baseada em dois princípios fundamentais. O primeiro é que você deve identificar o local exato no

genoma para poder executar alguma função. A mais comum, mas não a única, é cortar a fita dupla do DNA. A técnica utiliza uma proteína, chamada Cas9 (Figura 2), que funciona como uma tesoura, cortando o DNA do invasor em regiões específicas.



Figura 2. A enzima Cas9 funciona como uma tesoura, cortando o DNA em regiões específicas. Fonte: CropLife Latin America. <https://www.croplifela.org/pt/novidades/links/edicao-do-genoma-das-plantas>.

A Cas9 é levada até o gene alvo por uma sequência de RNA que forma par com a sequência a ser cortada, desde que esta tenha em sua vizinhança uma outra sequência específica de três nucleotídeos, chamada de PAM. Quando estiver nesta sequência, a proteína corta o DNA. Até este ponto é o que ocorre naturalmente no interior da bactéria. A tecnologia desenvolvida para edição gênica, além disso, faz uso dos mecanismos naturais de reparo das células que, ao sentir que há qualquer dano ao DNA, tenta consertar o que está errado. Isto se dá de duas maneiras, a primeira leva à produção de mutações resultantes de inserções ou deleções, e a segunda permite a substituição de um gene ou região genômica por uma nova sequência de DNA.

Curiosidade: genoma é o conjunto de genes ou material genético de um organismo. É mostrado como uma sequência de DNA, que é semelhante a uma biblioteca de letras. Dentro desta biblioteca de letras, há uma pequena proporção que corresponde a genes ou sequências com alguma função, herdáveis pelos descendentes.

No caso de plantas, a tecnologia CRISPR/Cas9 tem sido utilizada principalmente visando resistência a estresses bióticos e abióticos. O primeiro passo para edição de um gene por meio da tecnologia CRISPR/Cas é a escolha do gene alvo. Uma das estratégias adotadas pelos pesquisadores do Laboratório de Biotecnologia do CCSM/IAC é a escolha de genes que mostraram resposta ao ataque de patógenos de citros e que podem explicar parte dos sintomas desenvolvidos pelas plantas suscetíveis.

As doenças que mais tem desafiado a citricultura atualmente são o cancro cítrico e o *Huanglongbing* (HLB, Figura 3). Dessa maneira, nesse momento os alvos principais para a edição de genes no CCSM/IAC são relacionados à resposta aos patógenos *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*) e *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas), agentes dessas doenças, respectivamente. Estes também são os alvos dos trabalhos realizados fora do Brasil. Os trabalhos publicados com citros até o momento, utilizando a tecnologia CRISPR, são oriundos dos EUA e China. Esses trabalhos focaram a edição de promotores de genes de susceptibilidade ao cancro cítrico ou em genes que codificam fatores de transcrição. Após a edição desses

genes, os pesquisadores demonstraram que as plantas apresentaram maior resistência ao cancro cítrico quando comparadas às plantas não editadas. Trabalhos visando edição de genes para controle do HLB também tem sido desenvolvidos por esses grupos de pesquisa, mas ainda não foram publicados.

Curiosidade: um gene de susceptibilidade é aquele cuja expressão é necessária para o desenvolvimento de uma doença. Promotor é uma região do DNA onde se inicia a transcrição de determinado gene e um fator de transcrição é uma proteína que se liga ao DNA para ajudar a transformar genes específicos em “ligados” ou “desligados”.

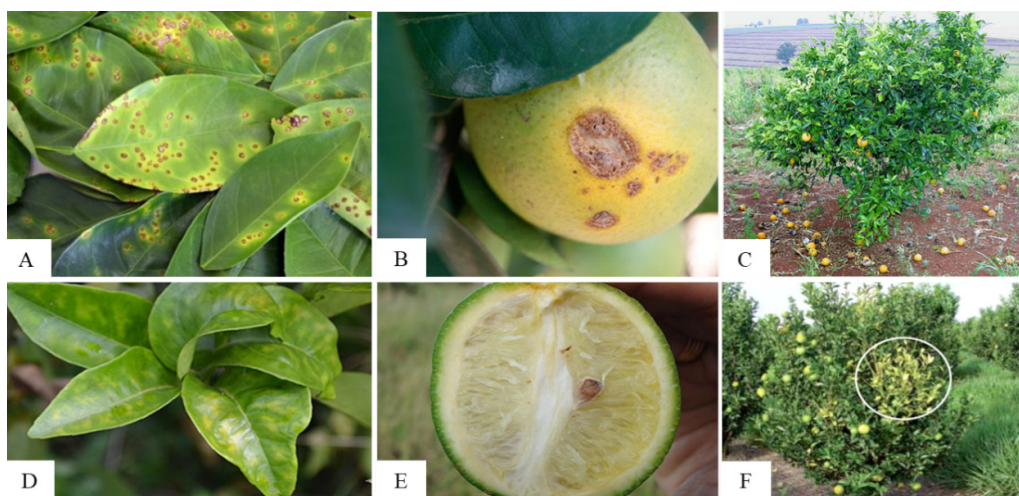


Figura 3. Sintomas de Cancro Cítrico (A, B e C); sintomas de HLB (D, E e F). Fonte: Fundecitrus; GOTTWALD, 2002.

Visando à resistência a *X. citri*, um dos genes que tem sido explorado pelos pesquisadores do CCSM/IAC é o gene

lateral organ boundary, descrito como um gene de suscetibilidade de laranja doce a *X. citri*. Visando resistência ao HLB, os genes alvos foram escolhidos por meio de

análises de expressão gênica de laranja doce após infecção por CLas. Como CLas é um patógeno restrito ao floema, alguns genes específicos de floema foram mais expressos, incluindo os genes *callose synthase*, *phloem protein* e *sieve element occlusion*. Esses genes estão envolvidos com a produção de calose e de algumas proteínas que se aglomeram, causando o bloqueio do floema e consequentemente causando distúrbio no fluxo de seiva das folhas para a raiz. Esse bloqueio resulta no acúmulo de açúcar, na forma de amido, nas folhas. A hipótese é que o acúmulo excessivo de amido nos cloroplastos das folhas, causa o rompimento dessa estrutura, produzindo os sintomas foliares de mosqueamento, típicos de HLB.

Após a escolha do gene alvo, a determinação do método de entrega da Cas9 e das sequências de RNA também é outro desafio. No CCSM/IAC tem sido utilizada a construção de vetores com Cas9 e também o RNA guia. Dependendo do vetor de clonagem, mais de um RNA guia pode ser utilizado ao mesmo tempo, o que aumenta as chances de quebras do DNA pela Cas9 e consequentemente de edição. No

entanto, a transformação de citros ainda tem sido feita por meio da integração genômica estável mediada por *Agrobacterium*. Até o momento, plantas transformadas utilizando um vetor expressando dois guias diferentes estão sendo avaliadas para verificação das taxas de eficiência da transformação e da edição.

Considerações finais

Embora a tecnologia CRISPR/Cas9 seja promissora para o desenvolvimento de cultivares resistentes aos diversos patógenos de citros, o uso da transgenia ainda pode causar dificuldades com a legislação. Uma das apostas, tem sido a utilização de técnicas não integrativas, como as ribonucleoproteínas (RNP), que consistem no complexo da enzima Cas9 e do RNA guia purificados, para editar protoplastos de citros (Figura 4). Essa abordagem resulta em mutantes não transgênicos, no entanto é bastante limitada a algumas espécies, incluindo os citros, devido a dificuldades no processo de regeneração.

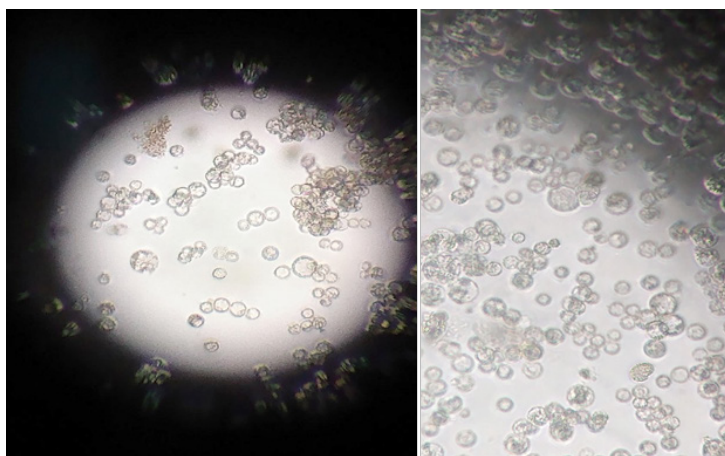


Figura 4. Protoplastos isolados de calos de citros. Foto: Maiara Curtolo.

Referências

CASERTA, R.; TEIXEIRA-SILVA, N. S.; GRANATO, L. M.; DORTA, S. O.; RODRIGUES, C. M.; MITRE, L. K.; YOCHIKAWA, J. T. H.; FISCHER, E. R.; NASCIMENTO, C. A.; SOUZA-NETO, R. R.; TAKITA, M. A.; BOS-CARIOL-CAMARGO, R. L.; MACHADO, M. A.; DE SOUZA, A. A. Citrus biotechnology: What has been done to improve disease resistance in such an important crop? *Biotechnology Research & Innovation*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.12.004>

CROPLIFE LATIN AMERICA <https://www.croplifela.org/pt/novidades/links/edicao-do-genoma-das-plantas>

FUNDECITRUS <https://www.fundecitrus.com.br/>

G1 <https://g1.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2018/11/27/entenda-o-crispr-a-tecnica-de-edicao-de-dna-que-pode-ter-criado-bebes-resistentes-ao-hiv.ghtml>

GOTTWALD, T. R.; GRAHAM, J. H.; SCHUBERT, T. S. Citrus canker: The pathogen and its impact. On-line.

Plant Health Progress. 2002. <https://doi:10.1094/PHP-2002-0812-01-RV>

GOULIN, E. H.; GALDEANO, D. M.; GRANATO, L. M.; MATSUMURA, E. E.; DALIO, R. J. D.; MACHADO, M. A. RNA interference and CRISPR: Promising approaches to better understand and control citrus pathogens. *Microbiological Research*, v. 226, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.03.006>

WANG, L.; CHEN, S.; PENG, A.; XIE, Z.; HE, Y.; ZOU, X. CRISPR/Cas9-mediated editing of CsWRKY22 reduces susceptibility to *Xanthomonas citri* subsp. *citri* in Wanjincheng orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Plant Biotechnology Reports*, v. 13, p. 501-510, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11816-019-00556-x>

PENG, A.; CHEN, S.; LEI, T.; XU, L.; HE, Y.; WU, L.; YAO, L.; ZOU, X. Engineering canker-resistant plants through CRISPR/Cas9-targeted editing of the susceptibility gene CsLOB1 promoter in citrus. *Plant Biotechnol J.* v. 15, n. 12, p. 1509-1519, 2017. <https://doi:10.1111/pbi.12733>



Quarentenário IAC

Instituto Agrônômico - Quarentenário IAC

Christina Dudienas¹
Roberta Pierry Uzzo¹
Martha Maria Passador²

Com objetivo de detectar e conter a introdução de novas pragas no país, o Quarentenário IAC (Figura 1), um dos mais importantes do Brasil, é responsável por realizar a quarentena de plantas e materiais de vegetais (plantas in vitro, estacas e sementes, entre outros) que serão introduzidos no país por empresas privadas ou instituições públicas, com a finalidade de pesquisa científica. É credenciado pelo Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Portaria nº 56, de 11 de maio de 1998, que regulamenta a introdução de materiais vegetais para pesquisa científica. Após realização de diversas adequações de suas estruturas, laboratórios e atualização de métodos diagnósticos, o quarentenário IAC aguarda credenciamento pela Instrução Normativa nº 29, de 24 de agosto de 2016, que estabelece normas rigorosas de funcionamento de uma Estação Quarentenária, fundamentadas nas Normas Internacionais para Medidas Fitossanitárias (NIMF 34).

PqCs Responsáveis Técnicas do Quarentenário IAC, Campinas (SP).

¹ dudienas@iac.sp.gov.br

¹ rpuzzo@iac.sp.gov.br

² quarentenaiac@iac.sp.gov.br



Figura 1. Quarentenário IAC.

As análises fitossanitárias dos materiais recebidos são efetuadas de acordo com protocolos integrados, baseados em diferentes princípios biológicos, por membros que compõem a comissão de quarentena do Instituto Agrônomo. Esses membros são especialistas em Fitopatologia, Virologia, Biologia Molecular, Nematologia, Entomologia, Patologia de Sementes, Matologia e Cultura de Tecidos. Atualmente, o trabalho é realizado em laboratórios e casas de vegetação na área do Quarentenário e Laboratórios do IAC, dentro de normas de segurança fitossanitária, com um sistema de controle que permite a rastreabilidade dos testes e uma atualização diária de seu andamento.

Com as adequações exigidas pela Instrução Normativa - IN 29, todo processo é conduzido dentro de uma área fechada e exclusiva para o Quarentenário. O princípio das normas é que todo o material introduzido no país para pesquisa científica permaneça armazenado e avaliado em área restrita até que os testes indiquem sua sanidade e isenção de riscos para a agricultura brasileira. Isso demanda uma ampla capacidade de armazenamento em câmaras frias, salas de crescimento para plantas in vitro com diferentes condições de iluminação e temperatura ou freezers, conforme o tipo de material.

Além disso, há laboratórios para cada área de especialidade, desde salas para abertura de caixas e outras embala-

gens, com vedação adequada para evitar escape de insetos, até laboratórios para testes moleculares. Esses laboratórios estão interligados e conectados com as áreas de armazenamento, para maior agilidade na detecção e contenção de uma praga quarentenária. As casas de vegetação, necessárias para avaliação do desenvolvimento de sintomas de doenças nas plantas, têm um sistema de filtros de ar com pressão negativa que impede a disseminação de doenças ou escape de qualquer inseto que possa estar presente nessas plantas. Estão também interligadas aos laboratórios.

Nesse local delimitado por cercas e monitorado por sistema de câmeras de vigilância, toda a água utilizada na irrigação das plantas e nos testes laboratoriais é tratada para evitar a contaminação com patógenos que possam interferir nos testes.

Ao final do processo, a água e os resíduos dos testes são tratados para evitar uma possível contaminação do meio ambiente. Essa adequação já está implementada para a estrutura utilizada atualmente.

O Quarentenário IAC, no período de 2017 a 2019 recebeu 58.705 acessos para pesquisa científica no país. Em 2020, até junho, foram introduzidos 5.798 acessos (Figura 2). A quantidade foi reduzida grandemente pela drástica diminuição do trânsito internacional, devido à pandemia do Covid-19. Espera-se que, com o restabelecimento do tráfego internacional, as introduções desses materiais vegetais retornem ao nível de anos anteriores ou aumentem, para suprir a demanda da agricultura brasileira por novas cultivares mais produtivas, com melhores características nutricionais e mais resistentes a doenças e pragas.



Figura 2. Infraestrutura para o dia a dia de trabalho: o Quarentenário IAC, no período de 2017 a 2019 recebeu 58.705 acessos para pesquisa científica no país.



Programa de Pós-Graduação do Instituto Agrônomo

Ação pioneira da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo que traz inovação à agricultura tropical e subtropical por meio da formação de recursos humanos.

Gabriel Constantino Blain¹

O Programa

Criado em 1999, o Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical do Instituto Agrônomo (PPG-IAC) atende à demanda nacional de formação de recursos humanos, com base na expertise de mais de 130 anos de pesquisas voltadas ao desenvolvimento da agricultura. A implementação desse programa pode ser considerada uma ação pioneira, uma vez que o IAC foi o primeiro Instituto de pesquisa, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a ter um curso de pós-graduação stricto sensu.

Em 2009, após obter elevação de seu conceito junto à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, órgão responsável pelo credenciamento de cursos de pós-graduação stricto sensu, o PPG-IAC passou a oferecer além do mestrado, o curso de doutorado. Ao longo de mais de 20 anos de existência, o Instituto Agrônomo formou 452 alunos em nível de mestrado e 74 em doutorado (Figura 1), destacando-se por oferecer formação voltada tanto para a pesquisa aplicada quanto básica, com geração de tecnologias que trazem soluções e inovação para o setor agrícola. Dada sua importância, o programa conta com apoio de instituições de fomento, como CAPES, FAPESP, CNPq além da iniciativa privada. As dissertações e teses desenvolvidas no PPG-IAC têm caráter

¹ IAC - Pesquisador científico, coordenador do PPG-IAC, Campinas (SP). pgiac@iac.sp.gov.br

inovador, pois são parte integrante de projetos desenvolvidos na instituição. Os alunos são inseridos em projetos multidisciplinares que congregam profissionais de diferentes linhas de pesquisa e de outras instituições nacionais e estrangeiras. Nesse aspecto, os alunos do PPG-IAC passam a constituir importante fonte de recursos humanos para o

desenvolvimento das pesquisas institucionais, aprendendo “a prática” da experimentação agrícola. Assim, grande parte dos alunos que cursaram o Programa de Pós-Graduação do IAC conseguem excelentes posições profissionais tanto no setor público quanto no setor privado.



Figura 1. Homepage institucional (<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitut/posgraduacao/>) exibindo o prédio da Pós-Graduação do IAC.

Teses e dissertações defendidas no PPG-IAC são disponibilizadas na homepage institucional (Figura 2). Os exames finais para obtenção dos títulos de mestre ou doutor são eventos públicos que podem ser assistidos por todos. Nesse exame, o aluno faz uma breve

apresentação de sua dissertação ou tese (30 a 60 minutos), sendo posteriormente arguido por três (mestrado) ou cinco (doutorado) especialistas. Esse processo confere rigor científico aos resultados obtidos em cada projeto resultando em maior confiabilidade das novas tecnologias geradas pelo PPG-IAC. Ainda sob

o enfoque de validação científica de resultados, todo aluno do programa deve publicar seus resultados em revistas científicas de alto impacto, as quais avaliam, por meio de editores e revisores

pertencentes à comunidade científica internacional, os trabalhos desenvolvidos ao longo do projeto de dissertação ou tese.



Figura 2. Busca de teses e dissertações IAC : (<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutoposgraduacao/repositorio.php>)

Esse ano, as medidas de combate à pandemia do COVID-19 alteraram o dia-a-dia dos professores e alunos do PPG-IAC. As aulas, ministradas de forma remota, têm imposto uma dinâmica totalmente nova quanto à “arte de ensinar”. O tempo para apresentação de novos conceitos deve ser reduzido, sendo sempre intercalado com exercícios de fixação. Esses exercícios devem ser elaborados de forma a permitir que os docentes e os “telealunos” os façam de forma interativa.

Áreas do Conhecimento

O Programa de Pós-Graduação do IAC aborda três grandes áreas do conhecimento (descritas abaixo) que quando analisadas em conjunto demonstram o alinhamento do PPG-IAC para com a missão institucional de gerar e transferir ciência, tecnologia e produtos para otimização dos sistemas de produção vegetal, com responsabilidade ambiental, visando ao desenvolvimento socioeconômico e à segurança alimentar.

Tecnologia da Produção Agrícola:

desenvolver conhecimentos com ênfase no aumento da eficiência produtiva e da sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola. Nessa área, o estudante tem acesso aos conhecimentos sobre culturas de interesse agrícola, climatologia, fisiologia vegetal, nutrição mineral de plantas e fitossanidade, que são subsídios fundamentais para o desenvolvimento de pesquisas nas áreas de relações planta-ambiente, qualidade de produtos e manejo de sistemas de produção agrícola.

Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia:

aborda aspectos conceituais e aplicados de genética, citogenética e genética quantitativa, com ênfase no melhoramento genético de culturas anuais e perenes. Técnicas de biologia molecular e de cultura de tecidos vegetais são utilizadas como ferramentas para o melhoramento vegetal. Incluem-se também a caracterização e conservação de recursos genéticos, já que a instituição possui banco de germoplasma de inúmeras espécies de interesse agrícola. Os alunos acompanham os programas de melhoramento que resultam no lançamento de cultivares IAC, o que pode representar oportunidades únicas de formação nessa área.

Gestão de Recursos Agroambientais:

enfoca temas que relacionam os recursos ambientais à atividade agrícola, visando a melhoria da produtividade, proteção

ambiental e segurança alimentar. Essa área enfatiza conceitos fundamentais de solo e clima, que são o ponto de partida de estudo de manejo sustentável de ecossistemas. As pesquisas desenvolvidas pelos alunos atendem a atual demanda por informações sobre impacto de diversas atividades agrícolas no ambiente, incluindo emissão de gases de efeito estufa, reciclagem de resíduos, controle da erosão e da degradação e remediação ambientais, e por informações e técnicas para redução desses impactos com ganhos de produtividade, como indicadores de qualidade do solo, planejamento agroambiental, manejo da fertilidade do solo, atividade e diversidade da microbiota do solo e recuperação de áreas degradadas.



Considerações finais

Conforme demonstrado nesse texto, o Programa de Pós-Graduação do Instituto Agrônomo capacita profissionais de nível superior com visão científica e tecnológica. Essa formação compreende um conjunto de atividades que incluem e privilegiam a pesquisa e a inovação. Essa formação confere aos alunos ampla capacidade para integração do conhecimento teórico com a resolução de problemas práticos, visando atender a atual demanda socioeconômica por inovação tecnológica para a agricultura.

As ações do PPG-IAC têm sido referendadas pela formação e oportunidades de trabalho dos alunos egressos, com aprovação em concursos públicos para pesquisadores e professores e em Programas de Doutorado e Pós-Doutorado. Também parte dos egressos foi incorporada em equipes de Pesquisa e Desenvolvimento em empresas da iniciativa privada, dando continuidade e aplicação do conhecimento adquirido. Com isso, espera-se que o PPG-IAC continue sempre a contribuindo para o avanço do conhecimento com vistas ao constante aprimoramento da capacidade da Agricultura Tropical e Subtropical em atender à crescente demanda regional, nacional e até mesmo internacional por alimentos, água e energia. Naturalmente, esse avanço - o qual implica em estudos abordando o uso eficiente e sustentável

de recursos naturais - deve também impulsionar métodos biotecnológicos que objetivam a geração sustentável de produtos, empregos e renda. Além do treinamento/aprendizado voltado ao atendimento dessa demanda, espera-se que os alunos formados no PPG-IAC sejam capazes de utilizar métodos científicos na solução de problemas e desafios ao longo de suas vidas profissionais.



NIT



Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT-IAC): avanços desde a sua criação

Lilian Cristina Anefalos¹

O Instituto Agrônomo (IAC), desde a sua origem, tem como prioridade gerar soluções por meio de novos conhecimentos e do desenvolvimento de novas tecnologias aplicados ao setor agrícola. Nesse sentido, é reconhecido o pioneirismo do trabalho da instituição em atender às demandas das cadeias produtivas, com atenção aos avanços das legislações, pautadas para as políticas de gestão da inovação, ao longo do tempo. É nesse contexto histórico que se insere a atuação do Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT-IAC).

Os principais objetivos do NIT-IAC são: atuar de forma integradora para aproximar o ambiente interno e externo, de acordo com a missão institucional, com o intuito de dar suporte ao desenvolvimento tecnológico e inovação, para que o IAC

amplie o valor gerado para a sociedade; atuar de forma colaborativa para que o IAC seja uma Instituição de excelência em Ciência, Tecnologia e Inovação na Agricultura Tropical e Subtropical.

Trajétoria do NIT-IAC desde a sua origem

As atividades dos Núcleos de Inovação Tecnológica têm se tornado cada vez mais relevantes e imprescindíveis para as Instituições de Ciência e Tecnologia (ICTs) públicas, frente às crescentes exigências decorrentes das mudanças políticas e econômicas em curso, no sentido de atuar para reduzir a dependência tecnológica e trazer um diferencial competitivo para o País, no contexto de uma economia globalizada. Esse cenário é acirrado por crescentes demandas dos

¹ IAC - Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT-IAC), Campinas (SP). lcanefal@iac.sp.gov.br

consumidores por produtos e serviços, devidamente estruturados, com ampla responsabilidade ambiental e social. Nesse contexto, houve grande evolução e quebra de paradigmas nas relações entre as ICTs junto ao próprio Governo, ao qual estão subordinadas, e à iniciativa privada, com relação às ações de pesquisa, desenvolvimento tecnológico e fomento à inovação. De acordo com o Relatório FORMICT 2018 do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC, 2019), com relação às 305 Instituições de Ciência e Tecnologia consideradas no Brasil, públicas e privadas, 72,1% delas implementaram seus NITs e 16,4% estavam em fase de implementação em 2018.

Principais aspectos relacionados à Legislação Brasileira

A legislação brasileira iniciou as tratativas para proteção dos direitos intelectuais na década de 1940, a partir de decretos relativos ao código penal, com o objetivo de resguardar os direitos autorais (Decreto-Lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940 e Decreto-Lei nº 3.689, de 3 de outubro de 1941) e, posteriormente, esse tópico fez parte da Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. Nos anos 1990, foi estabelecido o alicerce para a garantia de direitos intelectuais no Brasil, por meio da publicação de regulamentações legais quanto à proteção da propriedade industrial (Lei nº 9.279,

de 14 de maio de 1996), regida pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) e, relacionado ao registro e proteção de cultivares, foi publicada a Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997, regulamentada pelo Decreto nº 2.366, de 5 de novembro de 1997, com ação liderada pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento, cuja denominação foi alterada, a partir de 2003, para Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A partir de então, novas normatizações foram efetivadas, culminando com a regulamentação do Marco Regulatório da Inovação, por meio da publicação da Lei nº 13.243, de 11 de janeiro de 2016, e por seu Decreto nº 9.283, de 7 de fevereiro de 2018.

No estado de São Paulo, tem havido, também, um respaldo significativo, com a publicação de Decretos, Portarias e Resoluções para garantir as relações institucionais frente às iniciativas para promover a inovação, como o Decreto mais recente publicado, nº 62.817, de 04 de setembro de 2017. Para viabilizar maior sinergia junto ao setor produtivo, foram criados os NITs, por meio do Decreto nº 56.569, de 22 de dezembro de 2010, no âmbito das Instituições Científicas e Tecnológicas do Estado de São Paulo - ICTESPs, das Secretarias de Estado.

Paralelamente a todos esses avanços nos Governos Federal e Estadual, é importante destacar o pioneirismo do IAC para instituir ações para a gestão

da inovação no âmbito institucional. Em 1 de março de 1999 foi criado o Comitê de Registro e Proteção de Cultivares no IAC e, desde então, tem sido realizado o acompanhamento e aprovação dos pedidos de registro e proteção de novas cultivares, de forma ininterrupta, contando com uma revisão periódica de seu regimento interno. Atualmente, todas as atividades desse comitê fazem parte do NIT-IAC, alicerçadas, inicialmente, na Política de Propriedade Intelectual, publicada na Portaria IAC 3, de 13 de março de 2017, com base na regulamentação do NIT-IAC, por meio da Resolução SAA 12, de 12 de março de 2016, que aprovou a Política de Propriedade Intelectual das ICTs da Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA). Há que se registrar também, nesse processo de regulamentação das ações de inovação no IAC, a publicação de documentos para a implementação de Políticas Institucionais (Almeida et al., 2000).

Em um segundo momento, em função da estruturação dos NITs dos Institutos de Pesquisa da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA/SAA, foi publicada a Política de Inovação da APTA, em Portaria APTA 226, de 15 de junho de 2018, e, posteriormente, a Política de Inovação do IAC - Portaria IAC 25, de 10 de setembro de 2018, da qual fazem parte os Regimentos Internos da Política de Inovação relativos à Propriedade Intelectual, do Comitê Técnico de Registro e Proteção de Cultivares, às bolsas,

e procedimentos Internos de Gestão da Política de Propriedade Intelectual. Essa relevante etapa de elaboração da Política de Inovação foi construída de forma conjunta, por meio da constituição inicial de um Conselho Gestor Consultivo, formado por um representante do NIT de cada instituto de pesquisa da APTA/SAA, por meio da Portaria APTA 270, de 28 de junho de 2016, coordenado pelo responsável do NIT-APTA, que tem o papel de dar apoio ao NIT de cada instituto de pesquisa da SAA, em ações complementares, conforme sua necessidade.

Paralelamente à gestão da política interna, realizada pelo NIT de cada IP, para atender a todas as demandas institucionais, em atendimento à legislação vigente, ações sinérgicas entre os NITs foram trabalhadas em rede, podendo-se destacar, além do esforço para normatização institucional, a capacitação das equipes dos NITs e a organização de ações de difusão e de transferência de tecnologia. Esse arranjo foi designado como Rede NIT APTA/SAA, e possibilitou, inclusive, a formalização de parceria entre a APTA, por meio de seus institutos, e a Fundação de Pesquisa e Desenvolvimento do Agronegócio - FUNDEPAG, em 2016, para prover capacitação mais dirigida das equipes de NITs da APTA/SAA. É importante acrescentar que essa Rede teve como inspiração a Rede Inova São Paulo, criada em 2013, para fortalecer a cooperação entre as ICTESPs

por meio de ações de aproximação e de capacitação de seus NITs. O IAC fez sua adesão à Rede Inova São Paulo, em 2015.

Em atendimento ao Decreto Estadual nº 63.817, de 4 de setembro de 2017, o IAC solicitou, em dezembro de 2017, e efetivou, em 2018, o credenciamento das seguintes Fundações de Apoio: Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola (FUNDAG) e Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio (FUNDEPAG), junto à Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Estado de São Paulo (SDECTI). Essa ação foi realizada para garantir a continuidade de suas ações junto ao setor produtivo, para o desenvolvimento de ações de P&D, com vistas a promover a inovação tecnológica.

A fim de promover ações pró-inovação, o NIT-IAC está atualmente qualificado na FAPESP para atuação diferenciada em relação aos outros NITs. Tendo como referência o universo de 50

instituições do estado de São Paulo, que participaram do levantamento do FORMICT 2018 (MCTIC, 2019), o IAC é uma das nove ICTs que possuem seus NITs qualificados por esta Agência.

Avanços na Estruturação do NIT-IAC

A figura 1 apresenta os pontos focais da atuação do NIT-IAC, para auxiliar a instituição no aprimoramento de um ambiente favorável à inovação, auxiliando na disseminação do conhecimento, difusão e adoção de novas tecnologias e promoção do empreendedorismo. Vale ressaltar que um dos pontos fortes do NIT-IAC está alicerçado na atuação bem próxima da instituição junto ao setor produtivo, possibilitando atendimento às demandas de seus atores, em cada cadeia produtiva, com oferta de soluções tecnológicas, inclusive para a formulação de políticas públicas (Cesar et al., 2017).

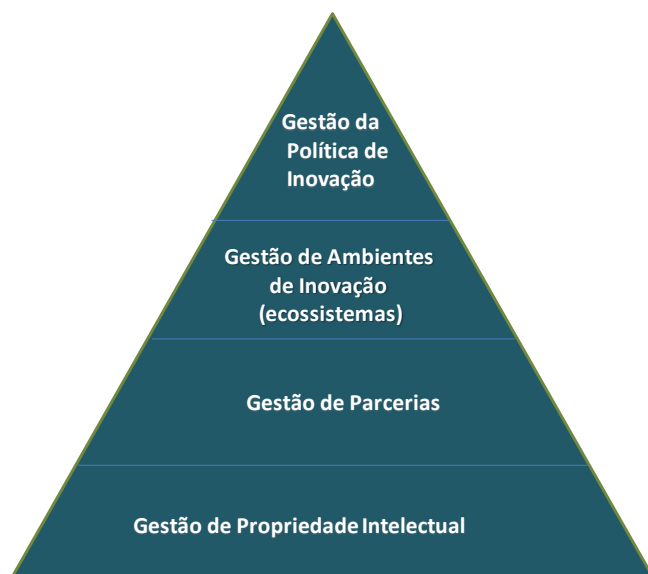


Figura 1. Atuação do NIT-IAC.

A partir da elaboração de diretrizes institucionais para garantir o funcionamento adequado do NIT, por meio da publicação de Política de Inovação (Portaria IAC 25, de 10/09/2018) e seus regulamentos internos e procedimentos, estão destacados, a seguir, pontos chave sobre o andamento da política, a partir das ações realizadas pelo NIT-IAC, de forma contínua:

Gestão da Propriedade Intelectual: capacitação da equipe do NIT e dos pesquisadores do IAC; registro e proteção de cultivares - fluxo contínuo, por meio do Comitê de Registro e Proteção de Cultivares; depósito de pedidos de patente e registro de marca e de *software* junto ao órgão competente no Brasil (INPI).

Gestão de Parcerias: formalização por meio de Memorando de Entendimento (*Memorandum of Understanding* - MoU), Acordo de Cooperação, Contrato de transferência de tecnologia, Contrato de licenciamento de tecnologias, (intermediados por Fundações de Apoio credenciadas), Termo de Transferência de Material (TTM); criação de novas oportunidades de parcerias, por meio de projetos de inovação, em parceria com instituições no Brasil e exterior.

Gestão de Ambientes de Inovação (Ecossistema): criação de novos ambientes para promover o empreendedorismo e a inovação, como as tratativas para a criação do

Centro de Inovação Tecnológica no IAC (CIT-IAC); atuação no Agropolo Campinas-Brasil, que se constitui em uma plataforma de inovação colaborativa com foco em Bioeconomia, concentrado nas áreas de agricultura, alimento, saúde, bioenergia e química verde. Foi implantado em 2015, sendo a Secretaria Executiva liderada pelo IAC, desde seu início, criação de treinamento para estimular o ecossistema de startups agropecuárias.

Gestão de Política de Inovação: acompanhamento das ações realizadas, por meio de análise dos processos e atividades em andamento.

Portfólio de Tecnologias Registradas e/ou Protegidas

O IAC tem desenvolvido um amplo espectro de soluções tecnológicas, com foco no setor agrícola, muitas delas compartilhadas na forma de recomendações técnicas, disponíveis em boletins ou livros, e disseminadas em ações diretas de transferência de tecnologia, como dias de campo e palestras e curso de capacitação direcionadas aos profissionais da área. Há também produtos e serviços especializados, ofertados ao setor, a partir de seu registro oficial, seja no MAPA, INPI, no caso de produtos e processos, ou mesmo de serviços, com sua acreditação no MAPA ou certificação no INMETRO. As tecnologias

IAC, devidamente registradas no MAPA ou o INPI, estão agrupadas de acordo com as seguintes categorias: cultivares (registradas e/ou protegidas no MAPA); patentes (pedidos depositados e concedidos); programas de computador (registros concedidos); marcas registradas.

Na figura 2 é apresentado um resumo do portfólio de tecnologias registradas e/ou protegidas, em 2018 e 2019. Foram lançadas 1.090 cultivares IAC, desde a sua fundação até o ano de 2019.

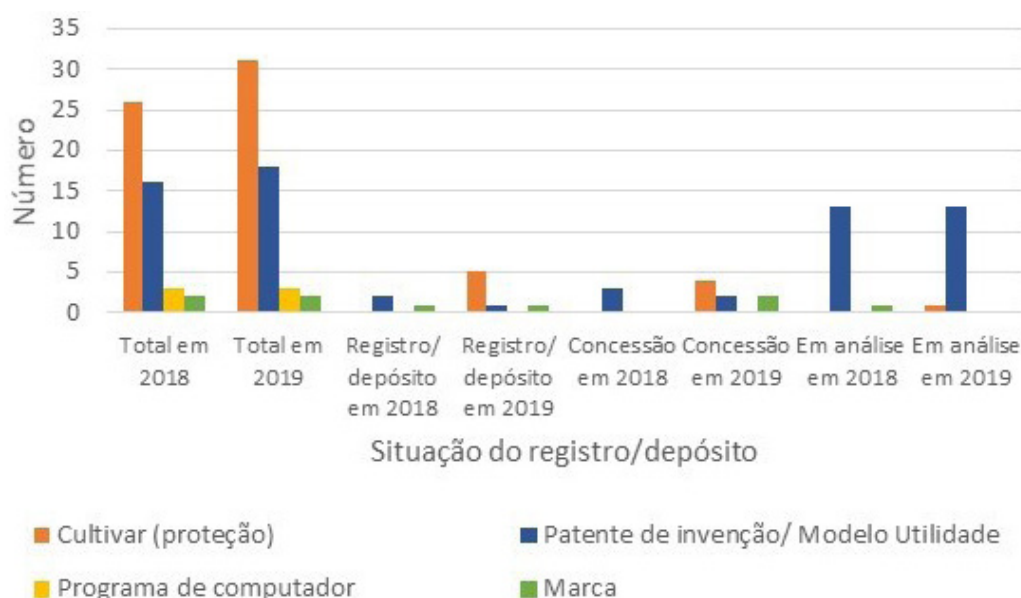


Figura 2. Resumo do portfólio de tecnologias (com base nos anos de 2018 e 2019).

O IAC em números

A partir das diretrizes institucionais estabelecidas ao longo dos anos, em 2018 e 2019 houve aprimoramento das relações com a iniciativa privada, ampliando o envolvimento do NIT-IAC junto a novos empreendedores, por meio de parcerias com startups em projetos PIPE/FAPESP.

Parcerias: Instrumentos jurídicos e ações/projetos interinstitucionais intermediados pelo NIT-IAC

Os tipos de instrumentos jurídicos elaborados ou firmados, em 2018 e 2019, para formalização de parcerias, com e sem a interveniência de Fundação de Apoio credenciada pelo IAC, são apresentados nas figuras 3 e 4.

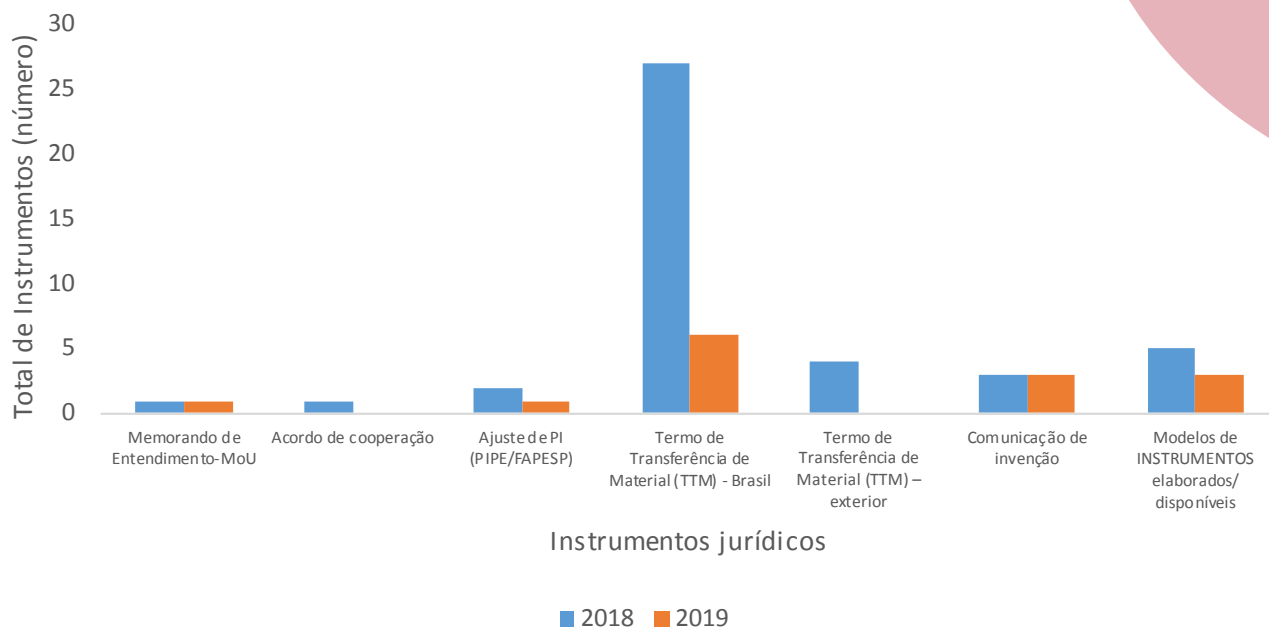


Figura 3. Instrumentos jurídicos elaborados ou formalizados, sem a interveniência de Fundação de Apoio credenciada, 2018 e 2019.

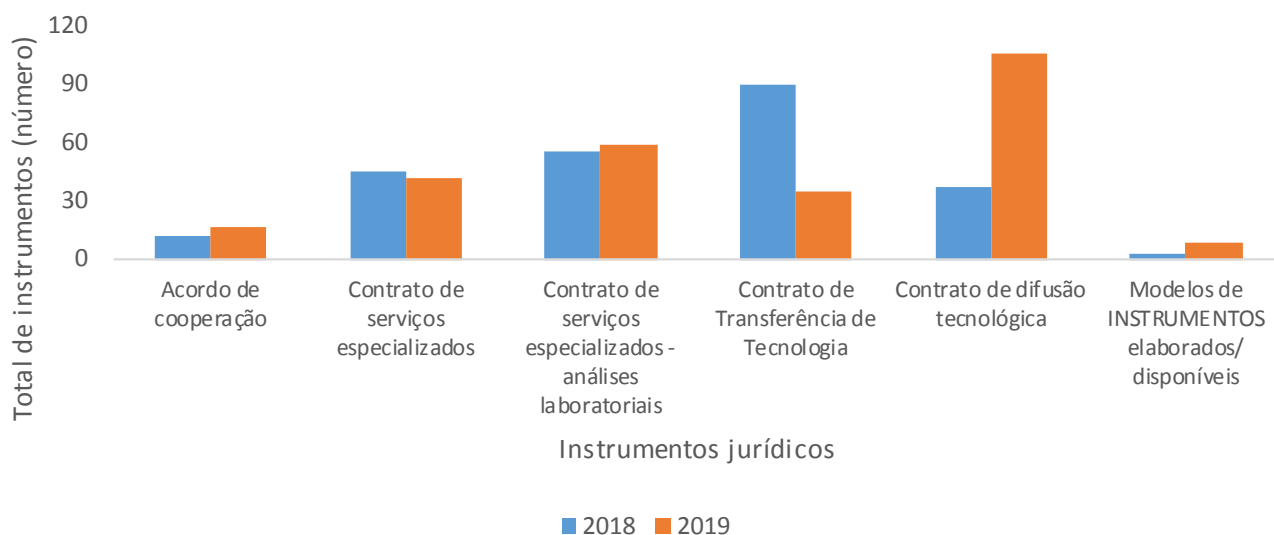


Figura 4. Instrumentos jurídicos elaborados ou formalizados, com interveniência de Fundação de Apoio credenciada, 2018 e 2019.

Na figura 5 estão relacionados o total de empresas e de contratos firmados com a instituição, com a interveniência de Fundação de Apoio

credenciada em 2018 e 2019. Observa-se que houve incremento de 31,9% e 34,5%, respectivamente, em 2019 em relação à 2018.

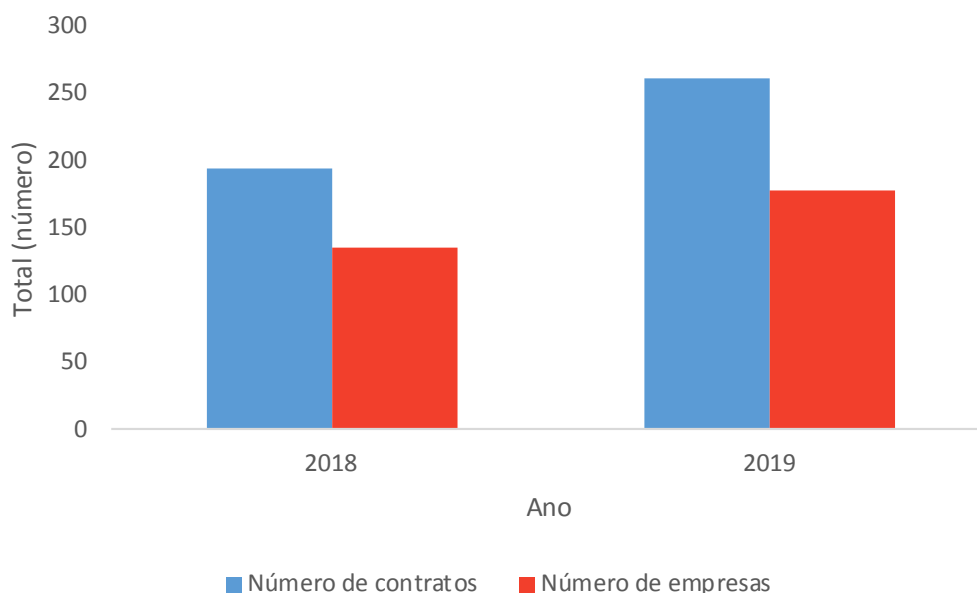


Figura 5. Número de contratos firmados e de empresas parceiras do IAC, 2018-2019.

Na figura 6 estão relacionados os percentuais de instrumentos jurídicos firmados pelo IAC com a iniciativa privada, alocados por categoria de contrato, em 2018 e 2019. É importante destacar

que, nestes anos, houve oportunidade de estabelecer parcerias por meio de ampla gama de ações, com foco em inovação.

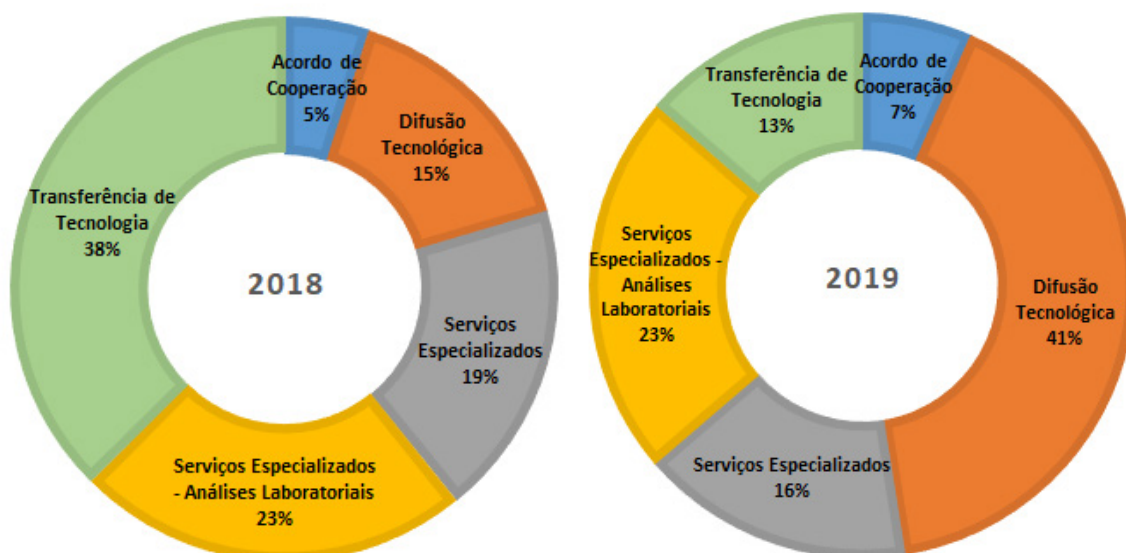


Figura 6. Percentual de instrumentos firmados com a iniciativa privada, por categoria, 2018 e 2019.

Tecnologias transferidas/licenciadas para o setor produtivo - destaques de 2019

Dentre os esforços do IAC para a adoção de tecnologias desenvolvidas pela instituição, devem ser relacionados as seguintes ações iniciadas em 2019:

- Transferência de tecnologia de cultivares de cana-de-açúcar IAC, registradas e protegidas no MAPA e validação de novos clones, por meio da efetivação de 31 novas parcerias junto às usinas, em 2019, como parte das atividades do PROCANA-IAC;

- Licenciamento da cultivar IAC 2019MARIA, primeira tangerina desenvolvida no Brasil, devidamente protegida no MAPA, por meio de edital de Oferta Tecnológica, garantindo a disponibilização de mudas para o mercado citrícola em 2020;

- Desenvolvimento de novos produtos, a partir do licenciamento da patente, concedida pelo INPI ao IAC, em 2018, intitulada *"Uso do Composto de N-Acetil Cisteína e seus Análogos"* e, posterior assinatura de acordo de cooperação, em 2019, para possibilitar o escalonamento da tecnologia;

- Transferência de tecnologia de Mudas Pré-Brotadas (MPB), de cana-de-açúcar, por meio da efetivação de 3 novas parcerias em 2019, alavancadas, inclusive, com a concessão do registro da marca MPB, nesse ano, pelo INPI;

- Transferência de tecnologia INVICTA, a partir do novo conceito de muda semente de cana-de-açúcar, por meio da oferta de serviços especializados para o uso dessa tecnologia, impulsionada também pela concessão do registro da marca INVICTA, neste ano, pelo INPI.



Considerações finais

A partir dos esforços da instituição como um todo, o NIT-IAC tem se estruturado, progressivamente, para desenvolver as suas atribuições, aprimorando seus processos, a partir do comprometimento e treinamento contínuo de sua equipe. Há que se ressaltar que há ainda muitos desafios a serem transpostos pelo NIT, para a consolidação no IAC da cultura da inovação, por meio da prospecção tecnológica, proteção dos ativos tecnológicos, da transferência de tecnologia e do empreendedorismo.

O fortalecimento contínuo do NIT-IAC favorecerá o cumprimento de seus objetivos, com excelência, o que, consequentemente, contribuirá para que a instituição possa aperfeiçoar a cada dia seu relacionamento com a esfera pública e com o setor produtivo, para fomentar novas oportunidades de projetos de desenvolvimento tecnológico e inovação, fomentando, também, sua atuação junto a potenciais ou novos empreendedores, com foco no atendimento de demandas do setor agrícola.

Referências

ALMEIDA, L. A. de; TEIXEIRA, J. P. F.; FUZZATTO, M. F.; BASTOS, C. R.; MARQUES, M. O. M. Gestão da propriedade intelectual no Instituto Agronômico. Campinas, Instituto Agronômico, 2000. 20p.

CESAR, J.; ANEFALOS, L. C.; CAMARGO, G. A.; GESTIC, P. F. L. Desafios dos Núcleos de Inovação Tecnológica: Experiências da Inova-Unicamp e dos NITs de Institutos de Pesquisa da SAA/APTA-SP - capítulo 13, p. 297-313. In: Inovação em Rede: Boas práticas de Gestão em NITs. 2017, 350p.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES - MCTIC. RELATÓRIO FORMICT 2018. 64p. 2019. Disponível em: <http://fortec.org.br/2019/12/02/relatorio-formict-ano-base-2018/>





Clínica fitopatológica dos citros

Helvécio Della Coletta-Filho¹

A Clínica Fitopatológica (CF) do Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira", IAC, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, atende a todas as exigências legais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o diagnóstico fitossanitário em doenças e pragas cítricas, contando com uma moderna infraestrutura para diagnósticos através de técnicas moleculares (PCR e PCR quantitativo em tempo real - qPCR), serológicas (ELISA) e microscópicas. As atividades hoje desenvolvidas na CF obedecem às normas internacionais de qualidade de laboratórios de ensaios e calibração (ABNT NBR ISO/IEC 17025:2015) adequando-se a estrutura física e aos equipamentos utilizados, sendo todos calibrados na rede brasileira de calibração (RBC).

O corpo técnico da CF conta com especialistas capacitados, periodicamente treinados e supervisionados segundo exigências da respectiva norma.

O escopo da CF conta com 10 métodos de diagnósticos de patógenos e pragas de citros, todos credenciados pela Coordenação Geral de Apoio Laboratorial (CGAL) do MAPA segundo a Portaria nº 121, de 08/11/2016 e acreditados pela Coordenação Geral de Acreditação - Cgcre do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro (CRL 1143), segundo as regras da *International Organization for Standardization* - ISO e *International Electrotechnical Commission* - IEC (ABNT NBR ISO / IEC 17025:2015) o que demonstra uma gestão de qualidade com especial atenção a competência técnica em todas as atividades desenvolvidas

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Citros "Sylvio Moreira", Cordeirópolis (SP). hdcoletta@ccsm.br

pela CF. Os escopos hoje estabelecidos na CF e acreditados são: diagnóstico de *Phyllosticta citricarpa* e indução de sintomas de Mancha Preta dos Citros (MPC); diagnóstico de *Candidatus Liberibacter sp.*, bactéria causadora do HLB ou greening dos citros; diagnóstico de *Phytophthora spp.*, agente casual da gomose dos citros; diagnósticos de espécies de nematoides de citros; diagnóstico de *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, bactéria causadora do cancro cítrico e diagnóstico de *Xylella fastidiosa*, bactéria causadora da CVC. Durante o ano de 2019, a CF realizou 16.818 análises, distribuídas de acordo com a figura 1. A CF está legalmente inscrita e credenciada no Registro Nacional de Sementes e Mudanças (RENASSEM) sob o número SP-16331/2017.

A inserção da CF às normas internacionais da ABNT NBR ISO/IEC 17025 auditadas pelo Cgcre/Inmetro demonstra o interesse do laboratório em garantir a qualidade dos serviços prestados e competência técnica, respaldando os seus resultados num sistema com altíssimo grau de rastreabilidade. Nesse sistema todos são beneficiados: os analistas por seguirem métodos padronizados e utilizarem-se de equipamentos calibrados, o corpo técnico por ter acesso aos registros de todas as etapas de análises e, especialmente, os usuários, por terem as amostras analisadas dentro de um sistema que busca constantemente o conceito de qualidade.

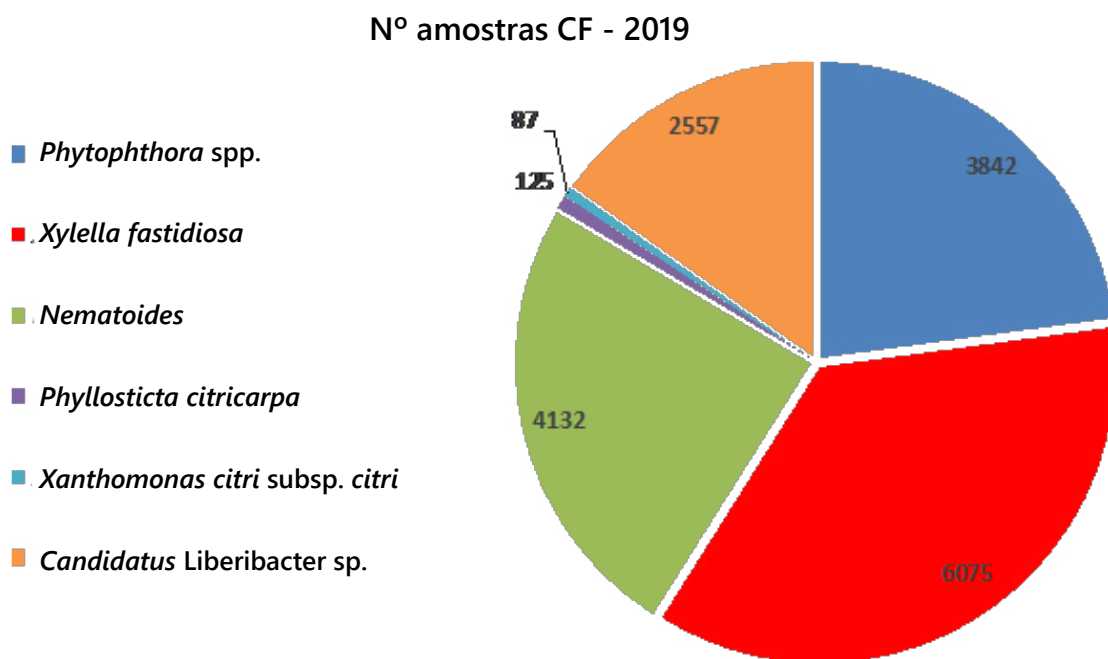


Figura 1. Número total de amostras de patógenos/pragas recebidas na Clínica Fitopatológica (CF) em 2019.



Ensaio de proficiência IAC para laboratórios de análise de solo:

Colaborando para que laboratórios privados prestem um bom serviço ao agricultor

Heitor Cantarella¹

O Ensaio de Proficiência IAC para Laboratórios de Análise de Solo teve início em 1984, quando o IAC lançou os métodos de análise de solo especialmente desenvolvidos para solos tropicais, que têm como base a extração de nutrientes do solo por meio da resina de troca iônica. A grande vantagem do método da resina, como ficou conhecido, é a capacidade de diagnóstico da

disponibilidade de nutrientes no solo, essencial para a determinar o uso de corretivos (calcário) e de fertilizantes. Cerca de 20% a 35% do custo de produção das lavouras provêm do uso desses insumos e sua escolha correta é imprescindível para o sucesso da agricultura, tanto em lucratividade quanto em qualidade dos alimentos e sustentabilidade ambiental.

No início do ensaio de proficiência, seis laboratórios aderiram aos novos métodos. Este número vem aumentando gradualmente e atualmente são 139 laboratórios, situados em 14 estados brasileiros. Há também cinco laboratórios no exterior (Figura. 1).

¹ IAC - Centro de Pesquisa de Solos e Recursos Ambientais, Coordenador do Ensaio de Proficiência IAC, Campinas (SP). cantarella@iac.sp.gov.br

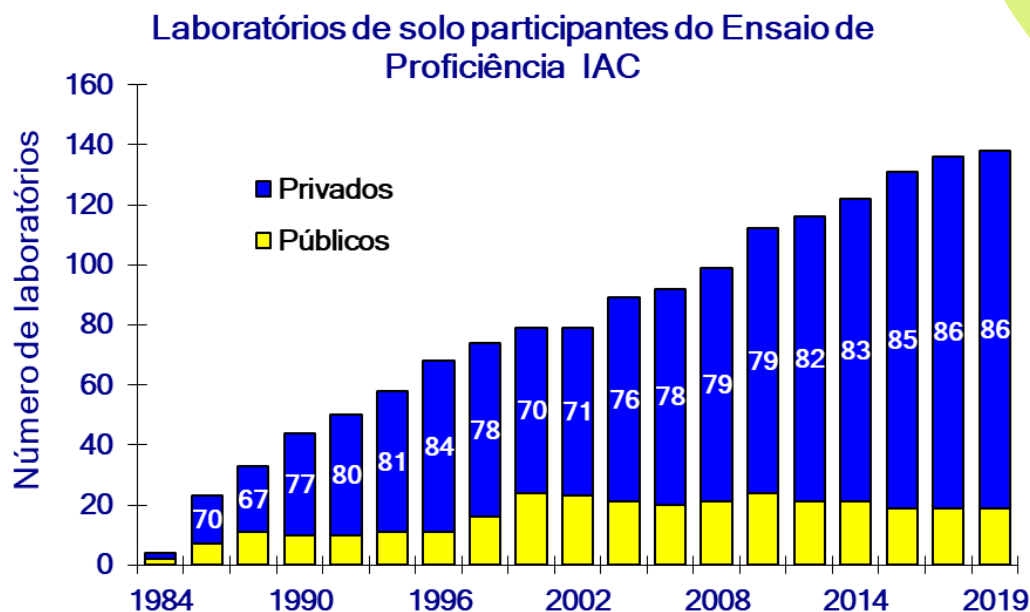


Figura 1. Número de laboratórios participantes do Ensaio de Proficiência (1984 até os dias atuais). Aumento do número de laboratórios participantes e da proporção de laboratórios privados.

O Ensaio de Proficiência marca também uma mudança de rumos do Instituto Agrônomo (IAC) no atendimento das necessidades da agricultura paulista e brasileira. No passado, as análises de solo eram feitas principalmente por laboratórios públicos devido à necessidade de estimular os agricultores a fazer uso desta importante ferramenta para a modernização da agricultura. Além disso, o setor privado não atuava em análise de solo. Com o passar do tempo e o aumento da demanda, laboratórios privados ingressaram nessa atividade. Estima-se que atualmente cerca de 4 milhões de amostras são analisadas anualmente no Brasil.

Embora o IAC, que teve o primeiro laboratório de análise de solo do Brasil, ainda faça análises para os agricultores, seu papel mudou. Hoje, por meio do Ensaio de Proficiência, o IAC ajuda os laboratórios públicos e privados a aferir a qualidade de suas análises e a melhorá-las. Desse modo, o IAC atende indiretamente os agricultores, propiciando meios para que o setor privado possa prestar serviços de qualidade, ao mesmo tempo que estimula a atividade de pequenas empresas que ajudam nossa agricultura a ser cada vez melhor.

Mais informações podem ser obtidas em <http://lab.iac.sp.gov.br>.



A importância da normatização: o caso das vestimentas de proteção para aplicadores de agrotóxicos

Hamilton Humberto Ramos¹
Viviane Corrêa Aguiar Ramos¹

Apesar de organismos nacionais e internacionais de normatização, como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e a International Organization for Standardization (ISO), juntamente com seus parceiros na iniciativa pública e privada, envidarem recursos e esforços no desenvolvimento de normas técnicas para diferentes áreas, não está claro para boa parte da população a importância que as mesmas podem adquirir na sua segurança ou qualidade de vida. O caso dos equipamentos de proteção individual para o trabalho com agrotóxicos pode ser um excelente exemplo dessa situação.

Apenas como um pouco de história, com as primeiras aplicações de agrotóxicos no Brasil, relatadas na década de 40, inicia-se a

preocupação com a segurança do trabalhador e o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI) na Agricultura. Nesta época os EPI eram adaptados da indústria, confeccionados com materiais grossos, pesados e impermeáveis, que além de proporcionarem baixo conforto e segurança, dificultavam algumas atividades no campo. Apesar disso, em 1977, a Lei nº 6.514, torna obrigatório o fornecimento e a manutenção dos EPI e especifica que os mesmos só poderão ser expostos a venda ou utilizados com a indicação do Certificado de Aprovação (CA) do Ministério do Trabalho. A partir de então inicia-se um processo de obrigação do uso de EPI não apropriados, que em muito contribuiu para a rejeição à utilização frequentemente observada hoje nos trabalhadores rurais.

¹ IAC - Centro Avançado de Pesquisa de Engenharia e Automação, Jundiaí (SP).
hamilton-ramos@iac.sp.gov.br

Apenas em 1990 inicia-se a preocupação com o desenvolvimento de EPI adaptado ao trabalho na agricultura, por parte de técnicos da Fundação "Jorge Duprat Figueiredo" de Segurança e Medicina do Trabalho (FUNDACENTRO), do então Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), hoje Secretaria Especial do Trabalho (SET), do Ministério da Economia, nascendo aí o conceito da utilização das vestimentas elaboradas em algodão tratado com hidrorrepelente empregado até hoje. No entanto, em todo este período, a falta de normas para o setor fez com que, no Brasil, o CA fosse emitido apenas através da apresentação de uma Anotação de Responsabilidade Técnica (ART) por parte do fabricante, onde o mesmo se responsabilizava pela qualidade do equipamento de proteção fornecido, sem, no entanto, haver qualquer comprovação efetiva sobre sua eficácia em proporcionar segurança ao trabalhador. Tal fato permitia, por exemplo, que o trabalhador estivesse em conformidade com a lei, trajando uma vestimenta que possuía o CA para manipulação de agrotóxicos, que, no entanto, lhe proporcionava pouca ou nenhuma proteção contra o risco a que estava exposto. Neste contexto, no início da década de 2000, o Centro Avançado de Pesquisa de Engenharia e Automação (CEA), do Instituto Agrônomo (IAC), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA/SP), por seus trabalhos na área de segurança nas atividades com

agrotóxicos, foi convidado como mediador técnico entre o MTE e uma agroindústria de citros com a finalidade de analisar a qualidade e adequação das vestimentas de proteção utilizadas no campo. Como parte das atividades, uma busca por normas que pudessem dar respaldo técnico, pesquisas foram realizadas e constatou-se que a ausência de normas adequadas não era apenas um problema do Brasil, mas mundial. Apenas poucas normas dispersas que poderiam ser aplicadas ao assunto foram identificadas e mesmo assim algumas eram normas de procedimento, onde não se estabelece o que é um resultado aceitável. Mesmo assim, uma norma americana (ASTM) foi selecionada, mais nove modelos de 4 diferentes fabricantes de vestimentas, além da utilizada pela agroindústria, foram analisadas e todas foram reprovadas, além de uma variabilidade muito grande entre os materiais ter sido observada. Ficou, no entanto, a dúvida: as vestimentas foram reprovadas por não possuírem qualidade ou porque a norma selecionada não era adequada a esta finalidade? Para analisar o problema e propor soluções foi constituída, em 2004, dentro do Comitê Brasileiro (CB) 32 - Equipamentos de Proteção Individual da ABNT, coordenado pela Associação da Indústria de Material de Segurança e Proteção ao Trabalho (Animaseg), a Comissão de Estudos (CE) 32:006.03 - Luvas e Vestimentas de Proteção - Riscos Químicos Agrotóxicos, com a participação

do CEA/IAC e de empresas fabricantes de vestimentas de proteção. No início, uma ampla avaliação das normas, tanto existentes quanto em desenvolvimento em escala internacional, foi realizado e definiu-se trabalhar em conjunto com a ISO, que vinha desenvolvendo norma específica para vestimentas de proteção para risco químico, a ISO 16602. Com o desenvolvimento das atividades da CE outro problema foi levantado: e se a norma for desenvolvida, publicada, adotada como lei no Brasil e nenhum equipamento de proteção disponível for capaz de atendê-la? Isso seria um serviço ou desserviço ao trabalhador? Assim, para responder a este questionamento nasceu em 2006, por meio de uma parceria entre o CEA/IAC e empresas fabricantes de vestimentas de proteção, através da FUNDAG - Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola, o QUEPIA - Programa IAC de Qualidade de Equipamentos de Proteção Individual na Agricultura. O QUEPIA, portanto, possui dois objetivos específicos: realizar estudos de laboratório com a finalidade de avaliar a adequação das normas em desenvolvimento e pesquisas para elaboração de uma base técnica que auxilie a indústria nacional no seu atendimento. Como exemplo destas atividades, após um intenso trabalho da CE 32:006.03 em desenvolver a ISO 16602, o teste de resistência à penetração de químicos (ISO 6530) que compõe a norma foi aplicado no laboratório do QUEPIA em 52 diferentes materiais (tecidos e não tecidos)

utilizados na confecção de vestimentas para riscos químicos com agrotóxicos no Brasil. Dos materiais analisados, 75% foram reprovados e observou-se, além de problemas inerentes a execução da norma, posteriormente levados a ISO por meio da ABNT para revisão, que esta não era a melhor solução para agrotóxicos, entre outras razões, pelos líquidos testes que utiliza. Mais de 90% dos materiais aprovados o foram apenas para uma solução de hidróxido de sódio, que por consenso da comissão possui natureza química totalmente diferente dos agrotóxicos. Em função disso, a utilização da ISO 16602 para vestimentas de proteção no trabalho com agrotóxicos foi abortada e focou-se a atenção para outra norma, a ISO 27065, específica para agrotóxicos, e que em 2008 começava a ser desenvolvida. Vários foram os ensaios e as opiniões no Brasil a esta norma até sua publicação em 2011.

Paralelo ao trabalho da ABNT e do QUEPIA, o MTE publica, em 30/03/2009, a Portaria nº 121, extinguindo no Brasil o CA por responsabilidade, estabelecendo normas de qualidade para todos os EPI e o prazo de 07/06/2010 para que todas as empresas regularizassem seus CA. Nesta portaria, pela primeira vez, risco químico e risco químico com agrotóxicos são considerados riscos químicos diferentes, mas ambos deveriam atender a ISO 16602. Em função disso, iniciou-se um trabalho junto ao MTE, por parte da

CE 32:006.03, mostrando a inadequação desta norma no caso das vestimentas de proteção para riscos químicos com agrotóxicos, com base nos dados obtidos pelo QUEPIA, e buscando-se alternativas ao problema. Como resultado, em 21/05/2010 o MTE publicou a Portaria nº 84, prolongando os CA destas vestimentas para 07/06/2011 para que pudesse dar tempo as discussões, e em 22/07/2010 a Portaria nº 189, finalmente estabelecendo a ISO 16602 para vestimentas de proteção para risco químico geral e a ISO 27065, mesmo ainda em fase final de desenvolvimento, para vestimentas de proteção para risco químico com agrotóxicos, tornando o Brasil o primeiro país no mundo a ter norma de qualidade específica para este EPI. Mas o trabalho da ABNT e do QUEPIA não pararam por aí. Após vários ensaios interlaboratoriais, envolvendo diversos países e onde o Brasil teve ação de destaque, em 2017 foi publicada uma nova revisão da ISO 27065 estabelecendo, principalmente, nova norma de ensaio para materiais impermeáveis (utilizados em equipamentos complementares como avental e áreas de reforço) e, em 2019, um anexo, alterando o líquido teste para outro tão eficiente quanto o original, mas atóxico, elevando a segurança nos laboratórios. Como resultado de todo este trabalho, a qualidade das vestimentas de proteção no Brasil tem evoluído muito, sendo que pelos dados do laboratório do QUEPIA, partiu-se de 49% de

aprovação em 2011, para 81% em 2018, e a tendência é aumentar em 2019. Essa integração público-privada, das áreas técnica e legislativa, resultando na adequada normatização da área de vestimentas de proteção para riscos químicos com agrotóxicos no Brasil, permite que o trabalhador brasileiro esteja mais seguro, mesmo sem saber disso. A evolução da segurança daquele trabalhador usando um EPI com CA por responsabilidade há 15 anos atrás para a atual, com EPI normatizado, é enorme face a evolução da qualidade dos equipamentos mas, para o trabalhador, ele continua a cumprir com a sua obrigação de utilizar um EPI adequado. Esse é o resultado da pesquisa chegando a normatização, estabelecendo regras claras e exequíveis de qualidade às empresas fabricantes, sendo adotadas como leis pelos órgãos competentes e resultando em benefícios à população. Em um país de dimensões continentais como o Brasil, a normatização talvez seja uma das ferramentas mais rápidas e consistentes de difusão de tecnologias. Urge estender o conceito da normatização a outros setores produtivos, sobretudo àqueles nos quais a inovação é ainda emergente. No próprio agronegócio há inúmeras oportunidades para aprimoramento de produtos e tecnologias. Boa parte delas está no radar do QUEPIA e também de outros programas do CEA/IAC, como a Unidade de Referência em Tecnologia e Segurança na Aplicação de Agrotóxicos e o 'Adjuvantes da Pulverização'.



| Agência Paulista de
Tecnologia dos Agronegócios

| Secretaria de
Agricultura e Abastecimento