

A fitopatologia moderna se caracteriza pela dinamicidade e no emprego de técnicas de biologia molecular e engenharia genética destinadas aos estudos de etiologia, epidemiologia e controle de doenças de plantas.

A rede de laboratórios <sup>de Fitopatologia</sup> anteriormente baseada apenas em métodos convencionais de identificação (isolamento, multiplicação e inoculação) derivados dos postulados de Koch, passou-se a ser mais dinâmica, abrangente e etimológica.

Na etiologia, destina-se esforços visando a identificação e caracterização de agentes etiológicos e suas respectivas doenças. Estes procedimentos baseiam-se no emprego de técnicas em conjunto como a identificação morfológica, testes como a coloração Gram, plantas indicadoras, meios seletivos e biologia molecular. O emprego de técnicas de biologia molecular são destinados a etimologia no processo de determinação de espécie, baseado inicialmente no sequenciamento de pequenas regiões conservadas de genes de agentes etiológicos <sup>como ITS e 16S rDNA</sup>. Com o avanço e a popularização destas técnicas, foi possível sequenciar o genoma completo, como exemplo o primeiro genoma sequenciado da bactéria *Xylella fastidiosa*. Com o avanço no sequenciamento de genomas, ~~conseguiu~~ foi possível identificar fatores genéticos relacionados as principais atividades de colonização, multiplicação e sobrevivência de diferentes fitopatógenos. A caracterização molecular dos agentes etiológicos é realizada, sendo o número de genes obrigatórios de acordo com o grupo taxonômico. Um exemplo são genes do





fungo *Fusarium* que para sua caracterização filogenética pode demandar mais de 7 regiões conservadas. Uma possibilidade é o sequenciamento de nova geração, que temem acessível o sequenciamento de genomas completos, com grande aplicação para microrganismos de genoma pequeno, como os vírus de plantas. Essas técnicas fazem parte atualmente da rotina dos laboratórios de fitopatologia, permitindo otimizar a determinação do organismo, seja ele ora DNA (PCR, PCR digite, PCR multiplex) ou RNA (qPCR, RT-PCR), com elevada precisão.

Na epidemiologia, busca-se entender o ciclo de vida dos fitopatógenos, determinando-se os fatores envolvidos na sua presença de infecção, colonização, reprodução e posterior disseminação e sobrevivência. A aplicação dos conhecimentos de biologia molecular baseiam-se tanto no monitoramento de surgimento de novas variantes nos populações de fitopatógenos com capacidade para ~~seleção~~ ~~seleção~~ superar a eficácia de métodos atuais de controle, sejam eles baseados no emprego de defensivos agrícolas (sejam químicos ou biológicos) ou no surgimento de raças, patógenos ou formas específicas que superam a resistência genética presente em cultivares já lançadas. Outra importante medida é destinada ao monitoramento e predição de variantes resistentes, como exemplo o *Fusarium oxysporum* Race 4, que tem o potencial de devastar os cultivos de banana presentes no Brasil devido a ausência de resistência prévia em alguns grupos cultivados de bananas.



O emprego de técnicas moleculares e engenharia genética em conjunto com os conceitos fitopatológicos se apresentam como importantes medidas no desenvolvimento de novas práticas de controle de doenças de plantas. O estudo das interações entre a planta e o patógeno podem fornecer informações cruciais para com o advento de técnicas como a Transcriptoma podemos estudar e determinar quais genes estão diferencialmente durante o processo de infecção. Estes genes devem ter seu efeito estudado para determinar possíveis regiões do genoma da planta passíveis de edição, possibilitando a obtenção de plantas resistentes. Um dos principais <sup>Técnicas</sup> utilizados atualmente para isso é o emprego da edição genética via CRISPR-CAS9. A técnica de CRISPR-CAS é baseada na inserção, deleção ou na reposicionamento de genes de suscetibilidade ou resistência de plantas. Essa técnica se apresenta como uma importante alternativa para situações onde a resistência genética em fontes naturais não é ~~de~~ disponível. Uma segunda utilização é a Transgênia, baseada na inserção de um cassete de transformação no genoma de plantas de interesse econômico. A Transgênia pode ser tanto baseada na inserção de genes de espécies com grau de parentesco, mas que apresentam impossibilidade de obtenção via cruzamento naturais (Cisgênia), ou de espécie com ~~menor~~ <sup>maior</sup> grau de parentesco (Transgênia). Essa inserção ~~se~~ pode ocorrer através da inoculação de bactérias do gênero *Agrobacterium*. No entanto, em situações em que plantas não hospedam a bactéria, podemos usar métodos diferentes como a técnica de biobalística (baseada no bombardeamento de partículas de ouro contendo o cassete de interesse) ou via CRISPR-CAS.



Outra possibilidade se refere ao emprego da tecnologia do silenciamento gênico pós-transcricional. Esse método se baseia na inserção de fragmentos do patógeno no genoma vegetal. Essa inserção abunda na síntese destes transcritos, que o silenciamento mediado pelas enzimas do complexo RISC. Como exemplo podemos citar o desenvolvimento de plantas que expressem proteínas virais como as do capsídeo, proteína viral ou proteínas de movimento.

Atualmente no Brasil temos permitida a comercialização de plantas transgênicas como a soja, Algodão, Eucalipto, Milho, Cana de Açúcar e a Feijão carioca. O exemplo do feijão é prático, pois permite aos agricultores a utilização de uma tecnologia doméstica e de fácil acesso, pois a ~~resistência~~ resistência vem na "semente". Outro benefício se deve ao menor uso de inseticidas, devido a ~~resistência~~ resistência do feijão ao vírus do mosaico decaído transmitido por moscas brancas. No entanto, a obtenção destes materiais são demorados e passam por um longo processo de registro até a liberação.

Ao mesmo passo que esforços são destinados ao desenvolvimento destas tecnologias, a sua popularização também deve ser estimulada, diminuindo os barreiras sociais relacionadas ao consumo, bem como a utilização sem as recomendações para o aumento na oferta de alimentos transgênicos ou editados. Tudo isso contribuindo para uma produção mais sustentável e que atenda a demanda do mercado consumidor, seja a nível nacional, quanto internacional.