

Ponto 8: Biologia molecular e engenharia genética aplicadas à fitopatologia

A fitopatologia clássica é o estudo de múltiplas interações entre plantas e patógenos e a relação entre estas com o ambiente. O homem dentro desta interação é considerado o tomador de decisões, formando assim, o triângulo da doença. Dentro das ferramentas de manejo, conhecer as bases da biologia molecular têm proporcionado reduções da severidade das doenças por base em estudos de engenharia genética. Com esta tecnologia mais uma aliada no manejo ~~de doenças de plantas (M)~~ ^(MIDP) ~~de plantas (MIDP)~~.

O estudo das interações planta-patógeno é uma atividade no estudo dos patógenos sistemas que evoluiu juntamente com a própria temática. Sendo assim, a fitopatologia clássica, que focou inicialmente apenas em entender sobre os agentes etiológicos e suas formas pouco suficiente para entender, mapear e direcionar estudos sobre a diversidade patogênica de fitopatógenos.

Conhecer a maquinaria secretada por patógenos durante a pré-infeção e como as plantas podem defender e reconhecer esses efetores, foi o primeiro passo para compreender esse "zig-zag" entre ataque e defesa, e assim conhecemos

o nível molecular, estas interações.

Com o advento da biologia molecular pode-se mapear pontos de variabilidade genética em fitopatógenos, e com esse entendimento dar-se o nível celular, seja no planta ou patógeno como esses efetores, secretos metabólicos ou genes transcritos se comportam o nível celular, seja o no nível apoplástico ou citoplasmático. Ao dar dentro deste sistema, ferramentas como "Effector 3.0" são guias para estudos in situ e in silico para conhecer candidatos efetores e guias programas de melhoramento genético para manejo de doenças de plantas.

O sequenciamento de genomas completos dos patógenos Magnaporthe oryzae, Ustilago maydis e Phthiophora rozei foram o ponto de partida para o início do uso da engenharia genética em fitopatologia. Por esta forma, iniciamos os trabalhos com a transgênia clássica e vamos até ferramentas mais modernas, como o sistema CRISPR, visando ferramentas para melhorias dos modelos, seja em transferência de nível do hospedeiro ou na edição de gene virulência nos patógenos ou inserção de genes R.

Os VIGS (virus Induced Gene Silencing), foram os primeiros estudos realizados em fitovírus, como forma de reduzir o

replicação pós-transcricional dos vírus nas células do hospedeiro. Seguindo, técnicas como a agroinfiltração, usando plantas de tabaco com *Agrobacterium tumefaciens* como promotor, ajudaram a localizar proteínas produzidas por vírus e sua sistematização nas células.

Em 1986 Powell et al e colaboradores produziram as primeiras plantas transgênicas, com base na inserção de proteínas do capsídeo de TMV (Tobacco Mosaic Virus) em plantas de fumo. Seguidamente, o novo planta transgênico foi o mamão bobaiano resistente ao PRSV (Papaya Ringspot Virus), patógeno que resultou em grandes perdas nos produtores de mamão e a planta transgênica ficou conhecida, devido a esse uso, por "Rainbow Papaya". Desta forma outra nomenclatura foi utilizada, os HIGS (Host Induced Gene Silencing) o qual se caracteriza pela inserção de genes R em plantas para silenciar genes. Com esta ferramenta, focou-se em estudos de silenciamento de genes, de formas e sair do modelo de resistência vertical e inserir diversos genes de defesa, como foi realizado por M. Vazquez (Universidade de arroz) com o gene *Pi* e para *Fusarium graminearum* e o gene *CYP51*, criando-se assim resistência múltipla aos diferentes diferentes vírus.

clusters patogênicos

Uma ferramenta mais atual são os SIGS (Spray Induced Gene Silencing) que são produtos, normalmente a base de RNAi que são aplicados nos plantas, porém com baixa instabilidade, podendo ter pouca persistência ambiental. Essa classe compõe o que chamamos de biofungicida de base molecular ou de quarta geração, podendo este ser classificado como transgênicos. Alguns estudos já comprovaram efetividade na redução de severidade de Botrytis cinerea e M. oryzae em até 50%.

O sistema CRISPR mediado pela enzima Cas 9 é uma ferramenta não-transgênica por sua base ser na edição de genes, ou seja, deletar genes que podem ser efetores de patógenos. O gene TAL em Xanthomonas oryzae é um exemplo, que confere resistência a várias doenças quando deletado.

Outro modelo dentro de engenharia genética, são os receptores NLR ativados por secretorinas dos patógenos, que são utilizados de forma com que a planta reconheça estes produtos antes do patógeno causar a infecção.

Todas essas ferramentas devem ser utilizadas de forma complementar e integrada, devido a multiplicidade de mais

de mais ferramentas, garantir melhores resultados na proteção de cultivos. Assim, fitopatologistas, agrônomos e demais agentes interligados e tomados de decisão voluntária para proteção de plantas, devem se atentar para além do manejo químico, para o MIP e conhecer as possibilidades de manejo de resistência e fungicidas, uma vez que a grande variabilidade genética também é ligada ao processo de seleção e o curto fitness que as populações patogênicas são expostas.

O ponto de atenção parte do termo do "boom-and-burst", no qual uma planta que vem de algum processo de engenharia genética (tanto para resistência monogênica quanto poligênica) é massivamente plantada, além de exportar as práticas de manejo unificadas, a baixa diversidade de vegetal, fato que leva a suplantação da resistência ou pouca efetividade destas tecnologias em curto prazo.

Assim, entendemos em tempos de mudanças climáticas a importância da variabilidade genética de populações de fitopatógenos neste cenário. É a importância do MIP é fortalecer as tecnologias disponíveis de engenharia genética para produção agrícola, fazendo tanto na proteção, como no bom uso das tecnologias é uma demanda emergencial dentro dos

diversos programas de melhoramento e
manejo para uma melhor resiliência
dentro do panorama climático e popu-
lações do planeta.