

2026FIT12429

Ponto 8: Biologia molecular e engenharia genética aplicadas à fitopatologia.

A aplicação da biologia molecular e da engenharia genética tem revolucionado a fitopatologia, possibilitando diagnósticos mais rápidos e precisos, melhor compreensão da interação planta - patógeno, conhecimento do comportamento das populações dos fitopatógenos e consequentemente a obtenção de medidas de manejo das doenças mais eficientes.

Os avanços no estudo dos ácidos nucleicos na década de 1960 revolucionou a compreensão da relação patógeno - hospedeiro, possibilitando a compreensão das bases moleculares dessa relação. Os mecanismos de resistência adquirida começaram a ser melhor elucidados, como a resistência adquirida por padrões - PTI e a resistência adquirida por efetores - ETI. Técnicas de biologia molecular e engenharia genética, como isolamento e clonagem de genes, detecção de genes e alterações genômicas em estudos relacionados a estes e outros padrões da interação patógeno - hospedeiro.

Uma das técnicas de biologia molecular mais utilizadas nos laboratórios de fitopatologia na atualidade é a reação em cadeia da polimerase (PCR). Essa técnica que consiste na amplificação exponencial de fragmentos específicos de DNA, tem possibilitado, principalmente, um diagnóstico mais rápido e preciso e sensível dos fitopatógenos, permitindo também a detecção de patógenos que não

são cultivados em meios de cultura artificiais, como por exemplo os vírus e bactérias fastidiosas.

Além da PCR convencional, essa técnica de biologia molecular possui algumas variações que também são muito importantes, como a PCR em tempo real (qPCR) e a PCR reversa (RT-PCR).

A qPCR permite a detecção e quantificação do DNA do fitopatógeno, sendo considerada uma importante ferramenta para diagnóstico de doença em plantas ainda assintomáticas, como por exemplo para a detecção de Erwinia spidii em mudas assintomáticas de eucalipto e goiabeira.

Já a RT-PCR permite o diagnóstico de moléculas de RNA, uma técnica molecular extremamente importante na detecção de fitovírus, uma vez que os principais vírus de planta possuem o seu genoma constituído de RNA.

Com o advento das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS), como illumina e intonent o estudo da biologia molecular dos fitopatógenos evoluiu ainda mais. Essas técnicas possibilitam por exemplo, a detecção de patógenos ainda não descritos, comparações de genomas, análises evolutivas, entre outras.

Comparações de genomas de estirpes de Phytophthora infestans, agente causal da requeima da batata e de Magnaporthe oryzae, causador da brusone do arroz possibilitou detectar estirpes mais agressivas e resistentes à fungicidas.

Além disso, as tecnologias de NGS permite também estudos de transcriptômica e proteômica.

2026FIT12429

As quais detectam genes responsáveis pela expressão de RNAs e proteínas.

Técnicas de engenharia genética tem sido amplamente utilizadas visando a resistência de plantas à patógenos, proporcionando uma diminuição do tempo em programas de melhoramento, através da transformação de plantas ou edição gênica.

Na década de 90 plantas de mamão transgênicas salvaram os cultivos da fruta nos Estados Unidos, através da transformação de plantas nas quais fragmentos do genoma do vírus Papaya ringspot virus (PRSV) foram inseridos nas plantas de mamão tornando-as resistentes ao vírus. Outro caso de sucesso de transformação de plantas foi a transformação de plantas de feijão comum, com a inserção de genes da proteína capsidial do vírus Bean golden mosaic virus (~~BSA~~^{BMV}) - BGMV.

Outra técnica de engenharia genética utilizada no melhoramento de plantas visando a resistência a fitopatógenos é a RNA de interferência (RNAi), a qual moléculas de RNA degradam pees RNA, causando o silenciamento gênico. Técnica que se mostrou eficiente no controle do Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), que é transmitido por mosca branca (Bemisia tabaci) em plantas de tomateiro.

Atualmente estudos tem apresentado-se promissores (~~com~~^{nulo}) com a técnica de edição gênica chamada de CRISPR/Cas 9, uma técnica de edição gênica que ocorre naturalmente em organismos bacterianos. Ela consiste em (~~o~~^{nulo}) cortes no genoma pela endonuclease Cas 9 determinados por RNAs

2026FIT12429

quias, sem a inserção de material exógeno. A edição do gene *ML0* tem gerado plantas de cevada resistentes a oídio. Assim como a utilização ^{NUVO} (da técnica CRISPR/Cas9 tem se mostrado promissora no manejo do cancro cítrico, causado por *Xanthomonas citri* através da edição do gene *LB01*.

No entanto, a utilização da engenharia genética, principalmente para a obtenção de plantas transgênicas, envolve questões éticas e que não devem influenciar na saúde humana, de animais e preservação ambiental.

Em síntese, a biologia molecular e as ferramentas de engenharia genética tem possibilitado muitos avanços à fitopatologia moderna, no entanto essas técnicas devem ser utilizadas com cautela e sempre que possível associada às técnicas de fitopatologia clássica.