

Contra as pragas da citricultura

Pesquisadores obtêm primeira laranjeira transgênica resistente à bactéria *Xylella fastidiosa*

Rodrigo de Oliveira Andrade

A *Xylella fastidiosa*, causadora da clorose variegada dos citros (CVC), é uma bactéria oportunista. Tão logo infecta as laranjeiras, transmitida pela picada de um inseto, a cigarrinha, ela começa a se multiplicar e a obstruir os vasos responsáveis pelo transporte de água e nutrientes da raiz para a copa das plantas. O resultado são folhas com manchas amarelas e frutos duros e pequenos, que amadurecem mais rápido e são impróprios para a comercialização. Trabalhando em colaboração com pesquisadores da Universidade da Califórnia em Berkeley, nos Estados Unidos, o grupo das biólogas Raquel Caserta e Alessandra Alves de

Souza, ambas do Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), em Cordeirópolis, interior paulista, conseguiu obter uma variedade de laranjeira transgênica resistente ao patógeno. A estratégia consistiu em introduzir no genoma da planta um gene da própria bactéria: o *rpfF*, responsável pela produção de uma proteína homônima que reduz a movimentação da *Xylella*. Nos testes iniciais, a diminuição da mobilidade da bactéria evitou que ela se espalhasse pela laranjeira, restringindo a colonização a poucas partes da planta.

Na *Xylella*, a proteína RpfF controla a produção do fator de sinal difusível, ou DSF, molécula envolvida na regulação da

densidade populacional e do comportamento do microrganismo. Após invadir a planta e aderir à parede do xilema – o conjunto de vasos que leva água e nutrientes do solo para as folhas –, a bactéria se multiplica e permanece unida a suas descendentes, formando uma rede, ou biofilme, que permite que se comuniquem entre si e se comportem como um organismo único. Quando o biofilme já entupiu boa parte dos vasos da planta, a concentração de DSF aumenta e sinaliza para que as bactérias parem de se mover e de se espalhar pela laranjeira.

No experimento, as pesquisadoras introduziram o *rpfF* da *Xylella* no genoma de duas variedades de laranja doce: pi-



Planta geneticamente modificada (à esq.) apresenta versão mais branda da infecção causada pela *Xylella* do que as tradicionais (à dir.)



2

Fruta saudável: com manejo adequado, a proporção de laranjais paulistas infectados com *Xylella* caiu de 43% em 2008 para 3% em 2017

neapple e hamlin. O objetivo era fazer a própria planta produzir a DSF e reduzir a capacidade da bactéria de colonizar o xilema. Em seguida, elas infectaram as plantas com a *Xylella* e as monitoraram ao longo de 18 meses. As laranjeiras capazes de produzir DSF apresentaram uma versão mais branda da doença, uma vez que a *Xylella* colonizou apenas parte (cerca de 30%) dos vasos. “Algumas plantas nem sequer apresentaram sintomas da doença”, explica Alessandra.

A inserção do gene *rpff* da *Xylella* nas laranjeiras também pode ser eficaz contra a *Xanthomonas citri*, causadora do cancro cítrico. A bactéria penetra na planta por aberturas nas folhas ou lesões no caule e nos frutos. Multiplica-se no local da infecção e se espalha pelo tecido sadio, danificando folhas e frutos. “A inserção do gene *rpff* na laranjeira a fez produzir DSF e interromper a expressão de genes da *Xanthomonas* envolvidos na virulência e na patogenicidade da bactéria”, explica Raquel.

A *Xylella* foi uma das piores pragas dos laranjais de São Paulo na década de 1990. A produção de mudas até então era feita a

céu aberto e deixava as plantas expostas ao inseto vetor da bactéria. À época, a praga atingia 34% dos pomares de laranja do estado, causando danos de cerca de US\$ 100 milhões (o equivalente hoje a R\$ 327 milhões) ao ano à citricultura paulista. Apoiados pela FAPESP, o sequenciamento do genoma da *Xylella* e o estudo da biologia da bactéria permitiram desenvolver um modelo de manejo da CVC — baseado no plantio de mudas cultivadas em viveiros protegidos, na poda ou eliminação das plantas contaminadas e no controle dos vetores — que fez a proporção dos laranjais paulistas afetados pela bactéria despencar de 43% em 2008 para 3% em 2017.

Mesmo com a redução dos danos aos laranjais, ainda é necessário desenvolver outras estratégias de combate à *Xylella*, que, além de laranjeiras, afeta também videiras, oliveiras e amendoeiras em outros países. A *Xylella* vem causando estragos nos olivais da região da Apúlia, no sul da Itália, e recentemente chegou às plantações de uva e amêndoa da Espanha. Em novembro, Alessandra apresentou os resultados obtidos com as laranjeiras transgênicas em um congresso

em Palma de Mallorca, na Espanha. Em parceria com os engenheiros-agrônomo Helvécio Della Coletta Filho, do IAC, e João Spotti Lopes, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (Esalq-USP), ela e pesquisadores italianos participam de um projeto que financia pesquisas e estimula a transferência de soluções inovadoras de controle da bactéria para a indústria, parte do Horizon 2020, o principal programa de fomento à pesquisa da União Europeia. Segundo Alessandra, a técnica de transgenia usada nas laranjeiras talvez possa ser adaptada para outras plantas.

ESTRATÉGIAS CONJUNTAS

Na Esalq-USP, a equipe do engenheiro-agrônomo Francisco Alves Mourão Filho trabalha há cerca de 20 anos na obtenção de laranjeiras transgênicas resistentes a pragas. Os estudos contaram com a participação da engenheira-agrônoma Beatriz Mendes, hoje aposentada. O resultado mais promissor que eles obtiveram foram laranjeiras com maior resistência à *Xanthomonas*. As plantas receberam um gene da mariposa *Trichoplusia ni*, que produz um composto antimicrobiano. As plantas estão sendo avaliadas, mas já indicam redução nos sintomas da doença. Para Mourão Filho, a produção de variedades transgênicas precisa ser acompanhada de outras medidas de manejo que ajudem a controlar as doenças no campo.

Apesar dos resultados promissores, ainda há um longo caminho até que as laranjeiras transgênicas no IAC saiam das estufas e ganhem os campos. O próximo passo, segundo Alessandra, é entrar com um pedido de Liberação Planejada em Meio Ambiente na Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTN/Bio), órgão responsável pela avaliação da segurança de organismos geneticamente modificados no Brasil. Se tudo der certo, a variedade poderá ser comercializada a partir de 2022. ■

Projeto

Interação *Xylella fastidiosa*-inseto vetor-planta hospedeira e abordagens para o controle da clorose variegada dos citros e cancro cítrico (nº 13/10957-0); Modalidade Projeto Temático; Pesquisadora responsável Alessandra Alves de Souza (IAC); Investimento R\$ 1.246.847,60.

Artigo científico

CASERTA, R. et al. Ectopic expression of *Xylella fastidiosa* rpff conferring production of diffusible signal factor in transgenic tobacco and citrus alters pathogen behavior and reduces disease severity. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. v. 30 (11), p. 866-75. nov. 2017.