



LARANJEIRAS IMUNES

Desenvolvimento no Centro de Citricultura passa por laboratório, estufa e teste em campo

Variedades desenvolvidas no Instituto Agronômico de Campinas, com acréscimo de gene de tangerina, mostraram-se resistentes à clorose variegada dos citros

Sarah Schmidt

Laranjas doces das variedades Pineapple e Hamlin receberam um gene de tangerina e se mostraram resistentes à clorose variegada dos citros (CVC), também conhecida como a praga do amarelinho. O trabalho foi conduzido por pesquisadores do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), em Cordeirópolis, interior paulista. Para chegar ao resultado, eles infectaram plantas de tangerina, naturalmente resistentes à doença, com a bactéria *Xylella fastidiosa*, causadora da CVC, e conseguiram identificar um gene com potencial de conferir essa resistência.

Batizado de RAP2.2, o gene já era conhecido da comunidade acadêmica por estar presente em outras espécies vegetais. No entanto, a descoberta de seu papel em defender plantas de citros frente à *Xylella* é inédita, “assim como a inserção do gene de tangerina em laranja doce com o objetivo de combater a praga”, ressalta a bióloga Alessandra Alves de Souza, líder do estudo e pesquisadora do IAC, instituição que completou 133 anos em junho. Os caminhos percorridos na pesquisa foram publicados nas revistas *Phytopathology* e *Molecular Plant-Microbe Interactions*, em 2019 e 2020, respectivamente.

A clorose variegada dos citros é transmitida às laranjeiras pela picada de cigarrinhas, insetos que medem pouco mais de um centímetro. Uma vez dentro da laranjeira, a *Xylella* começa a se multiplicar ao ponto de obstruir os vasos que transportam água e nutrientes da raiz para a copa das plantas, deixando os frutos pequenos e duros e, por isso, impróprios para o consumo e a comercialização. A praga já foi o maior problema dos citricultores paulistas – em 2009, atingia 42% das plantações de laranja de São Paulo e na região do Triângulo Mineiro e no sudoeste do estado. Atualmente, esse número caiu para 1,04%, de acordo com o levantamento de 2020 do Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus), divulgado em 24 de julho. O controle é feito com técnicas de manejo, como uso de inseticidas e plantio de mudas em ambiente protegido.

O gene de tangerina pode dar às laranjeiras condições de se defenderem melhor da doença. “Esse gene se liga ao DNA da planta e ativa outros genes, envolvidos na fortificação da parede celular vegetal. Com isso, a bactéria não consegue se mover tão bem e fica aprisionada”, explica Souza. “A planta, então, percebe o patógeno e ativa seu mecanismo de resistência, conseguindo matá-lo ou reduzir de forma significativa os danos cau-

sados por ele.” Como as laranjas doces são a principal cultura do agronegócio de cítricos, a nova planta tem potencial para ser mais competitiva. “Elas poderão produzir mais e ter um manejo mais sustentável e econômico”, observa a bióloga.

O cruzamento entre tangerina e laranja doce já ocorre de forma natural no ambiente e, por isso, o procedimento adotado não é classificado como transgenia e sim como cisgenia, quando são transferidos apenas genes de espécies compatíveis do ponto de vista reprodutivo. Isso garante um desenvolvimento mais rápido e seguro por evitar etapas em que poderiam ocorrer incompatibilidade.

Atualmente, as plantas de laranja doce com gene de tangerina estão sendo preparadas para entrarem na fase de ensaio em campo no próprio Centro de Citricultura, após mostrarem um bom resultado nas estufas. Como se trata de uma planta geneticamente modificada, para que a nova fase em campo seja iniciada é preciso obter autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). “Estamos com a documentação em andamento e a expectativa é que a liberação ocorra até o final do ano”, prevê Souza. Essa fase deve durar cinco anos e, depois disso, se os testes apresentarem resultados satisfatórios, as novas plantas poderão ser liberadas para os citricultores.

Após identificarem na tangerina uma série de genes associados aos mecanismos que poderiam conferir resistência à CVC, os pesquisadores os implantaram em uma “planta cobaia”, a *Arabidopsis thaliana*, muito utilizada em estudos de biologia molecular. “Nesta etapa, ganhamos vários anos em pesquisa, já que a transferência e o estudo de todos os genes em laranjas é um processo caro e demorado”, explica Souza, “principalmente porque a planta leva uns três anos para se desenvolver e tem um longo período juvenil de difícil manipulação genética”. Com o teste na planta modelo, esse período caiu para cerca de oito meses. Após a experiência em *Arabidopsis*, foi possível eleger o gene mais promissor, o RAP2.2, e transferi-lo para as plantas de laranja doce.

Parte do estudo foi desenvolvida no campus de Davis da Universidade da

Califórnia, nos Estados Unidos, onde o biotecnologista Willian Pereira passou um ano por meio do programa Ciência sem Fronteiras, enquanto cursava o doutorado em genética e biologia molecular, da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), sob orientação de Souza.

Entre agosto de 2015 e julho de 2016, ele aprofundou a pesquisa em *Arabidopsis* nos laboratórios do Departamento de Ciências das Plantas da universidade norte-americana. Por lá, analisou a função da proteína RAP2.2 da planta modelo para compará-la com a de tangerina. Ao perceber a semelhança entre elas, avaliou a reação de ambas à infecção por *Xylella*. “Os resultados mostraram que as proteínas são ortólogas, ou seja, desempenham a mesma função nos dois tipos de planta. Percebemos também que a infecção em *Arabidopsis* é similar àquela que ocorre nas laranjas doces, porque a bactéria coloniza os mesmos vasos e também gera sintomas”, conta Pereira. A pesquisa ainda mostrou, de forma inédita, que *Arabidopsis* pode ser usada como planta modelo para futuras pesquisas com outros genes de citros para uma variedade de aplicações.

“A possibilidade de existir uma planta resistente permitiria um uso menor de inseticidas no controle das cigarrinhas que são os vetores da CVC”, avalia o engenheiro agrônomo Antonio Juliano Ayres, gerente-geral do Fundecitrus. Ele ressalta, porém, que “é necessário aguardar os resultados em campo para confirmar a efetividade desses resultados preliminares obtidos em casa de vegetação”.

De fato, as demais etapas da pesquisa sugerem que o gene RAP2.2 tanto pode ser usado em outras espécies afetadas pela *Xylella*, como oliveiras e videiras, quanto tem potencial para o combate a outras pragas de citros, como o greening. Também chamado de HLB, o patógeno é hoje o maior desafio da citricultura mundial e atinge 20,87% das plantações de laranja em São Paulo e Minas Gerais, de acordo com os dados deste ano do Fundecitrus.

Como a *Xylella*, o HLB é transmitido pela picada de um inseto, o psílideo *Dialephoria citri*, e a bactéria *Candidatus liberibacter* também coloniza os vasos das plantas. “O gene de tangerina pode fortalecer as paredes desses vasos e ajudar a planta a eliminar a bactéria. Ainda, com os vasos mais resistentes, o inseto pode

desistir de picar a planta”, conta Souza. “Estamos estudando essa possibilidade.”

O Centro de Citricultura Sylvio Moreira tem tradição na busca por novas maneiras de combater as pragas em citros. Em 2017, Souza e colegas desenvolveram outra variedade de laranja transgênica resistente à CVC. Na ocasião, foi introduzido no genoma da planta um gene da própria bactéria: o *rpfF*, responsável pela produção de uma proteína homônima que reduz a movimentação de *Xylella*. Em 2020, as plantas completam dois anos em fase de campo e, até o momento, mostraram-se resistentes ao patógeno e com bom desenvolvimento em campo. O genoma da *Xylella* foi o primeiro de um organismo causador de doenças em plantas a ser sequenciado no mundo e o feito, parte do Programa Genoma FAPESP, foi capa da revista *Nature* em 13 de julho de 2000, com participação de Souza.

Outro destaque do Centro de Citricultura é um produto desenvolvido nos laboratórios do centro, cujo princípio ativo é uma molécula antioxidante chamada N-acetilcisteína (NAC), destinado ao controle do CVC, do cancro cítrico e do HLB. O NAC é comercializado desde 2019 pela startup CiaCamp – da Ciência ao Campo. Para Souza, as tecnologias desenvolvidas são complementares. “Nunca teremos um gene ou um produto que resolva todo o problema. Trabalhamos para termos alternativas. Daqui a uns anos, o patógeno consegue quebrar a resistência. Por isso, precisamos de diferentes abordagens, olhando para o futuro”, conclui. ■

Projetos

1. INCT 2014: De genômica comparativa e funcional e melhoramento assistido de citros (nº 14/50880-0); Modalidade Projeto Temático; Convênio CNPq-INCTs; Pesquisador responsável Marcos Antonio Machado (IAC); Investimento R\$ 3.138.880,49.
2. 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\$ 2.504.726,74.

Artigos científicos

PEREIRA, W. E. L. et al. *Citrus reticulata* CrRAP2.2 transcriptional factor shares similar functions to the *Arabidopsis* homolog and increases resistance to *Xylella fastidiosa*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. v. 33, n. 3, p. 519-27. 23 jan. 2020.

Os demais projetos e artigos mencionados estão listados na versão on-line.