

Unidade 15

CONTROLE GENÉTICO DE DOENÇAS DE PLANTAS**1. INTRODUÇÃO**

O emprego da resistência genética no controle de doenças vegetais representa um dos mais significativos avanços tecnológicos da agricultura. O uso de cultivares resistentes é o método de controle preferido simplesmente por ser o mais barato e de mais fácil utilização. Na verdade, existem culturas onde o controle das doenças mais importantes dá-se, quase que exclusivamente, por meio da resistência, tais como as ferrugens e carvões dos cereais e da cana-de-açúcar, as murchas vasculares em hortaliças e as viroses na maioria das culturas.

Três etapas básicas devem ser consideradas em qualquer programa de obtenção e utilização de cultivares resistentes:

- 1) Identificar fontes de resistência, ou seja, identificar germoplasma que possua os genes em cultivares procurados;
- 2) Incorporar estes genes em cultivares comerciais por meio dos métodos de melhoramento;
- 3) Após a obtenção de um cultivar resistente, traçar a melhor estratégia para que a resistência seja durável face à natureza dinâmica das populações patogênicas.

2. FONTES DE RESISTÊNCIA

O primeiro passo na elaboração de um programa de melhoramento é a identificação do material vegetal que fornecerá os genes de resistência. O melhorista geralmente recorre aos genes existentes em linhagens ou cultivares comerciais, pois estas são as fontes de mais fácil acesso. Elas apresentam a indiscutível vantagem de já serem melhoradas, isto é, a frequência de alelos que controlam características agrônomicas indesejáveis é muito baixa. Em alguns casos, no entanto, os genes inexistem ou, se presentes nos cultivares comerciais, não conferem um nível satisfatório de resistência. Neste caso, o melhorista deve recorrer ao germoplasma selvagem, isto é, não-cultivado. Em uma primeira instância, o melhorista deve procurar tais genes em populações selvagens ou não melhoradas que sejam da mesma espécie do cultivar a ser melhorado. Em uma segunda instância, o melhorista pode recorrer a espécies diferentes, mas geneticamente afins, pertencentes ao mesmo gênero. A transferência intraespecífica de genes é facilmente obtida através de cruzamentos, enquanto as transferências

interespecíficas geralmente requerem o auxílio de técnicas especiais para garantir a sobrevivência do híbrido, incluindo fusão de protoplastos, cultura de anteras ou resgate de embrião, dentre outras.

A correta manutenção dos bancos de genes é vista, hoje, como indispensável ao futuro da humanidade. Na verdade, germoplasmas selvagens compreendem a única garantia contra a fome e a miséria que podem advir do esgotamento da variabilidade genética nas principais culturas agrícolas. Exemplos do uso de germoplasma selvagem como fonte de genes são abundantes. Em batata, híbridos interespecíficos entre *Solanum tuberosum* e *S. demissum* foram obtidos há mais de um século, na tentativa de utilizar genes de resistência contra *Phytophthora*. Alguns genes de resistência vertical a *Bremia lactucae*, agente do mildio da alface, foram transferidos para *Lactuca sativa* de espécies selvagens de *Lactuca*, notadamente *Lactuca serriola*.

3. CLASSIFICAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA RESISTÊNCIA

A resistência pode ser classificada em monogênica ou poligênica, de acordo com o número de genes envolvidos. A resistência pode, também, ser classificada de acordo com sua efetividade contra raças do patógeno. Esta classificação, proposta por Vanderplank (1963), é muito interessante do ponto de vista prático, pois permite prever as conseqüências dos tipos de resistência no progresso da doença, fornecendo subsídios ao melhorista e ao fitopatologista na escolha das fontes de resistência que serão usadas em seus programas de melhoramento. Segundo Vanderplank, existem resistências que são efetivas contra algumas raças do patógeno e resistências que são efetivas contra todas as raças. No primeiro caso, temos as resistências ditas **verticais** (também chamadas de raças-específicas), ao passo que no segundo caso temos as resistências **horizontais** (ou raça-inespecíficas).

3.1. Identificação de Resistência Vertical e Horizontal

Quando uma série de diferentes isolados de um patógeno é inoculada em uma série de diferentes cultivares de um hospedeiro pode-se ou não ter uma **interação diferencial** significativa. Na ausência de interação significativa, qualquer

cultivar pode ser usado para obter um “ranking” dos isolados.

Na Tabela 1, por exemplo, para qualquer cultivar que se escolha, o isolado 1 sempre será o mais patogênico, não importando a existência de diferenças significativas nos níveis de resistência entre cultivares. Da mesma forma, para qualquer isolado que se escolha, o “ranking” das cultivares não se altera quanto à ordem de resistência. Por

definição, diz-se que a resistência do hospedeiro é do tipo **horizontal** e que os isolados diferem quanto à **agressividade**. Voltando à Tabela 1, pode-se dizer, então, que o isolado 1 é o mais agressivo de todos e que a cultivar A é a que apresenta maiores níveis de resistência horizontal (note que o termo horizontal não significa que todos os cultivares apresentam o mesmo grau de resistência).

Tabela 1. Ausência de interação diferencial: podem existir diferenças estatisticamente significativas entre isolados ou cultivares, mas não uma interação diferencial significativa entre isolados e cultivares. A ordem das cultivares, de acordo com a resistência, é constante, não importando o isolado que esteja sendo usado. Da mesma forma, a ordem dos isolados, de acordo com a patogenicidade, é constante, não importando qual cultivar esteja sendo usada

Isolados	Cultivares		
	A	B	C
1	3	4	5
2	2	3	4
3	1	2	3

Na Tabela 2, o isolado 4 é o mais patogênico caso se use a cultivar D como hospedeiro, ao passo que o isolado 5 é o mais patogênico quando se considera a cultivar E. Neste caso, diz-se que a resistência é do tipo **vertical** e que o patógeno difere quanto à **virulência**. A presença de

interação diferencial indica que há especialização do patógeno a nível interespecífico do hospedeiro, e, neste caso, os isolados são classificados em raças de acordo com seus espectros de virulência frente a uma série de hospedeiros diferenciais.

Tabela 2. Presença de interação diferencial: pode ou não existir diferença estatisticamente significativa entre isolados ou cultivares, mas sempre há uma interação diferencial significativa entre isolados e cultivares. A ordem das cultivares, de acordo com a resistência, ou dos isolados, de acordo com a patogenicidade, não pode ser determinada apenas pela reação frente a um isolado ou uma cultivar, respectivamente.

Isolados	Cultivares		
	D	E	F
4	5	1	1
5	1	5	1
6	1	1	5

O fato de uma cultivar apresentar resistência horizontal não significa que ele não tenha resistência vertical e vice-versa. Também não implica que os genes responsáveis por estes tipos de resistência pertençam a classes distintas. Da mesma maneira, raças agressivas também podem apresentar virulência e vice-versa.

3.2. Características Genéticas e Agrônomicas das Resistências Vertical e Horizontal

3.2.1. Controle Genético

É comum encontrar na literatura a noção de que a resistência vertical é do tipo monogênica enquanto que a resistência horizontal é do tipo oligo/poligênica. Embora existam inúmeros exemplos onde esta correlação é verdadeira, deve-

se tomar muito cuidado com esta generalização, pois existem contra-exemplos de todos os tipos. A resistência em sorgo a *Periconia circinata*, por exemplo, é monogênica e horizontal. Por outro lado, a resistência de cevada a *Puccinia hordei*, medida pelo tempo que leva entre a inoculação e o aparecimento de sintomas (período de incubação), é poligênica, mas apresenta interações diferenciais com raças do patógeno.

3.2.2. Durabilidade

Resistência vertical monogênica é passível de ser vencida dentro da capacidade microevolutiva do patógeno. Isto significa, em outras palavras, que este tipo de resistência tende a ser efêmera. Este é um fato para o qual não faltam exemplos na literatura, dentre os quais a transitoriedade da eficiência dos genes *Dm* de alface contra *Bremia lactucae*, dos genes *R* de resistência a *Phytophthora*

em batata, e dos monogênicos de resistência a ferrugem e antracnose (gene *ARE*) em feijoeiro, são alguns dos mais conhecidos. Também é geralmente aceita a idéia de que resistência horizontal oligo/poligênica está além da capacidade microevolutiva do patógeno em ser vencida. É o caso do cultivar Proctor de cevada, resistente ao fungo *Ustilago nuda*. O fungo penetra o embrião da planta, infectando os pistilos jovens da flor somente na época da polinização. No cultivar Proctor, ao contrário de cultivares suscetíveis, a polinização ocorre enquanto a inflorescência está ainda envolta pela bainha (cleistogamia), impossibilitando a infecção. Esta resistência, tipicamente horizontal, e presumivelmente além da capacidade de mudança do patógeno, é oligogênica, sendo governada por 3 genes.

3.2.3. Efeitos na Epidemia

A resistência vertical, por ser efetiva apenas contra algumas raças do patógeno, age no sentido de reduzir a quantidade efetiva de inóculo inicial, fazendo com que o início da epidemia seja atrasado.

Imagine-se, como exemplo, dois campos de batata lado a lado. Num deles cresce uma cultivar sem nenhum gene *R* de resistência vertical e no outro uma cultivar com o gene *R1*, que confere resistência a determinadas raças de *Phytophthora infestans*. Geralmente, no início do ciclo da cultura, o número de esporos do patógeno é bastante pequeno, de tal forma que ambos os campos, independentemente do genótipo das cultivares neles plantados, permanecem isentos de doença. No entanto, mais tarde, ambos são atingidos por uma leve chuva de esporos originária, por exemplo, de campos vizinhos que foram infectados mais cedo. Dos esporos que chegam até os dois campos em discussão, suponha que 99% pertença a raças que não podem infectar

a variedade com gene *R1*, tais como as raças (0), (2), (3), (4), (2,3), etc. O restante 1% de esporos pertence às raças (1), (1,2), (1,3), (1,4), (1,2,3), etc., que podem infectar ambos os campos. Para este grupo de raças, o campo com o gene *R1* é tão suscetível quanto o campo sem genes *R*. O resultado da chuva de esporos é que o campo sem o gene *R1* iniciou seu ciclo com um inóculo efetivo 100 vezes maior do que o campo com o gene *R1*. O número inicial de lesões (por planta, por m², por ha, enfim, qualquer unidade que se escolha) é 100 vezes maior no campo sem gene *R1* do que no campo com ele. Dessas lesões iniciais o fungo começa a se disseminar: a epidemia tem início. Daqui para frente, a epidemia prosseguirá com a mesma rapidez tanto num campo como no outro, mas a quantidade de inóculo no campo com *R1* é somente 1/100 daquela existente no outro campo. Por causa dessa menor quantidade de inóculo inicial, a epidemia em *R1* é retardada pelo período de tempo necessário para o inóculo aumentar 100 vezes. Isso se traduz em um atraso no início da epidemia.

A Figura 1 ilustra os fatos descritos acima. Além dos dias de atraso no início da epidemia, pode-se também notar que a taxa de aumento da doença, neste caso, não é reduzida pela presença do gene *R1*, mostrando-se tão rápida na cultivar resistente quanto no suscetível. Isto significa que a raça (1), por exemplo, pode atacar uma cultivar com o gene *R1* tão facilmente quanto a raça (0) pode atacar uma variedade *R0*: os esporos germinam e penetram do mesmo modo, o micélio coloniza o tecido hospedeiro com a mesma eficiência, os esporos são produzidos do mesmo modo e nos mesmos números, etc. Um observador experimentado, mesmo fazendo inspeções periódicas nos dois campos em discussão, não poderá decidir qual deles tem a cultivar com o gene *R1*, a não ser baseado no atraso inicial da epidemia.

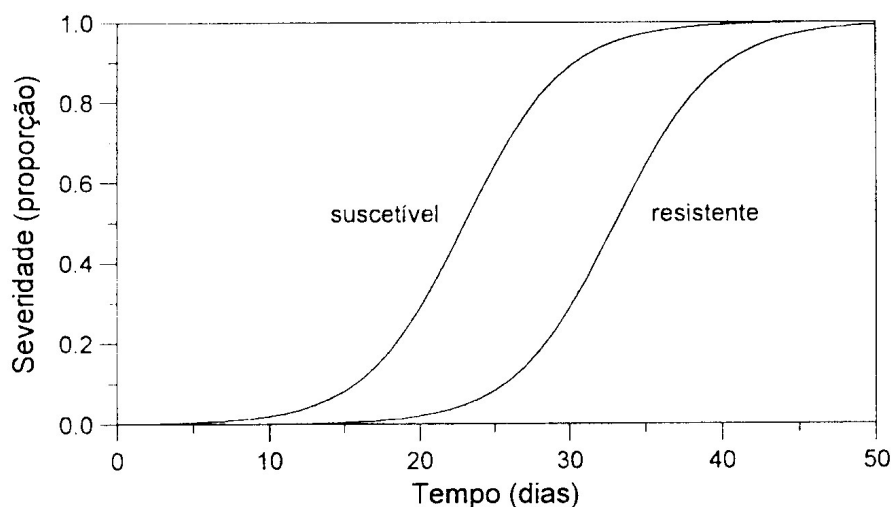


Figura 1. Efeito da resistência vertical sobre o desenvolvimento de epidemias [segundo Camargo & Bergamin Filho (1995)].

Com a resistência horizontal a situação é diferente. Ao contrário da resistência vertical, que geralmente manifesta-se conferindo à cultivar que a possui imunidade ou hipersensibilidade contra determinadas raças do patógeno (efeito qualitativo), a resistência horizontal, apesar de efetiva contra todas as raças, apenas diminui o tamanho das lesões produzidas pelo patógeno, aumenta seu período de incubação, diminui o número de esporos produzidos por lesões, e assim por diante. Todos os seus efeitos são parciais e

quantitativos: em cultivares com resistência horizontal, a eficiência de infecção é menor do que em uma cultivar suscetível, as lesões crescem mais lentamente, os esporos são produzidos mais tardiamente e em menor quantidade, etc. Todos estes efeitos somados produzem uma redução na taxa de desenvolvimento da doença (o valor de r), sem afetar significativamente o inóculo inicial (y_0), como ilustrado na Figura 2.

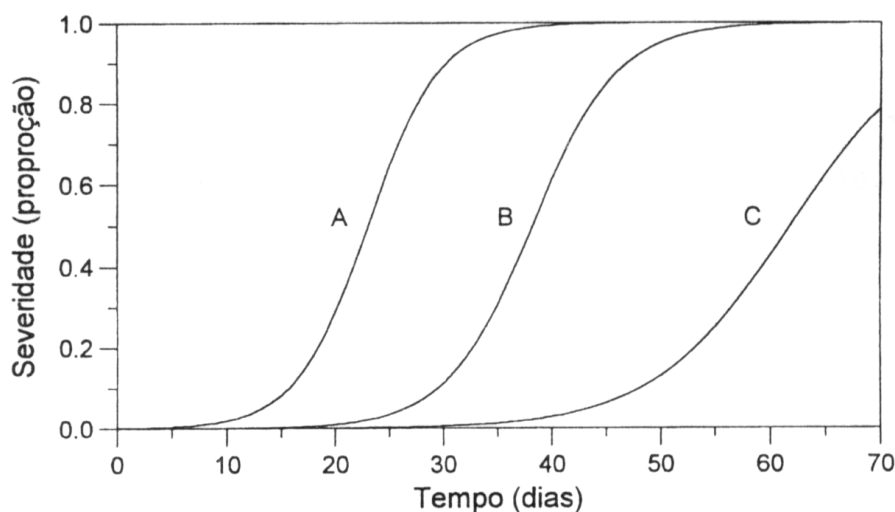


Figura 2. Efeito da resistência horizontal sobre o desenvolvimento de epidemias: resistência horizontal das cultivares A, B e C [segundo Camargo & Bergamin Filho (1995)].

De maneira geral, pode-se resumir os efeitos dos dois tipos de resistência no curso de uma epidemia dizendo que a resistência vertical afeta, principalmente, o inóculo inicial (y_0), enquanto a resistência horizontal afeta, principalmente, a taxa de desenvolvimento da doença (r).

Para avaliar o comportamento da epidemia na presença das resistências vertical e horizontal, considere as quatro cultivares hipotéticas representadas na Figura 3. A cultivar A tem pouca resistência horizontal e nenhuma vertical. A cultivar B tem a mesma quantidade de resistência horizontal que A, além de resistência vertical. A cultivar C assemelha-se à cultivar A por não ter resistência vertical, mas possui uma maior quantidade de resistência horizontal. Essa resistência horizontal é suficiente para dobrar o tempo gasto pelo patógeno para causar o dobro de

doença, qualquer que seja ele, em relação à cultivar A. A cultivar D tem a mesma resistência vertical de B e a mesma resistência horizontal de C. A curva D tem, portanto, a mesma inclinação da curva C. Entretanto, enquanto a curva B está somente 10 dias atrás da curva A, a curva D está 20 dias atrás da curva C porque a resistência horizontal reduziu pela metade a taxa de infecção e duplicou o tempo necessário para a doença recuperar a perda de inóculo inicial causada pela resistência vertical. A resistência vertical da cultivar D reforça grandemente a resistência vertical que ela possui. Mesmo considerando que os níveis da resistência vertical e da horizontal sejam pequenos, como mostrado pelas curvas B e C, o efeito combinado delas na cultivar D é muito bom.

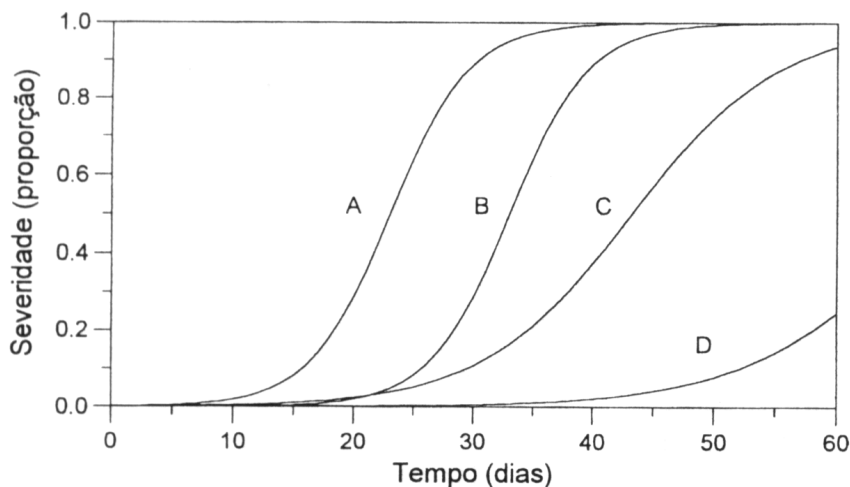


Figura 3. Efeito das resistências horizontal (RH) e vertical (RV), separadas e combinadas. A cultivar A possui pequena RH e nenhuma RV; a cultivar B possui a mesma RH de A, mais RV; a cultivar C não possui RV, mas tem mais RH do que A e B; a cultivar D combina RV com RH de C [segundo Camargo & Bergamin Filho (1995)].

4. MÉTODOS CONVENCIONAIS DE MELHORAMENTO

Os métodos usados em programas de melhoramento para resistência a doenças não diferem dos métodos usados para outras características agrônomicas. A escolha do melhor método de seleção leva em consideração, principalmente, o tipo de reprodução do hospedeiro (autógama ou alógama) e a natureza genética da resistência (monogênica ou poligênica). Não se pretende uma discussão aprofundada sobre os métodos convencionais de melhoramento, uma vez que estes podem ser encontrados em textos clássicos de excelente qualidade. O que se pretende aqui é discutir certas peculiaridades intrínsecas que devem ser levadas em consideração durante o processo de seleção de genótipos resistentes a doenças.

4.1. Seleção de Resistência Monogênica

A resistência monogênica caracteriza-se por uma distribuição descontínua no fenótipo, de tal modo que indivíduos resistentes podem ser facilmente distinguidos dos suscetíveis. Esta resistência é a preferida dos melhoristas, pois é muito mais fácil de ser manipulada em programas de melhoramento. Em se tratando de resistência monogênica, o melhorista, normalmente, depara-se com a seguinte situação: um gene de resistência é identificado em uma fonte de resistência, que pode ser uma linhagem ou um germoplasma selvagem,

por exemplo. O objetivo é transferir o gene para uma cultivar suscetível, mas que possua um ótimo mercado para outras características agrônomicas. A preocupação deve ser a de adotar um método de seleção que preserve ao máximo as características agrônomicas desta cultivar, ao mesmo tempo em que possibilite a introdução do gene de resistência. Neste caso, o método do **retrocruzamento** é o preferido. O termo retrocruzamento refere-se ao cruzamento repetido de uma progênie híbrida com um dos genótipos parentais, que é chamado de parental recorrente (no caso, o cultivar ao qual se quer incorporar o gene de resistência). O genótipo parental que fornece o gene de resistência é o doador. Na Figura 4 é apresentada uma representação esquemática da transferência de um gene de resistência à raça 1 de *Phytophthora megasperma* f.sp. *sojae* por meio do retrocruzamento. As cultivares Mukden e Hark são, respectivamente, os parentais doador e recorrente. Neste caso, a resistência é controlada pelo gene dominante *Rps*. A cada ciclo, a proporção do genoma do parental doador na progênie vai diminuindo, até que, após vários ciclos, o genoma do parente recorrente é restaurado, exceto que, agora, ele contém o gene de resistência. Note que, no caso da transferência de um gene dominante, o retrocruzamento é extremamente simples, uma vez que existem duas classes fenotípicas: a resistente e a suscetível. Assim, testes de progênie são necessários para saber quais plantas são homozigotas (que serão descartadas) e quais são heterozigotas (estas serão retrocruzadas ao parental recorrente).

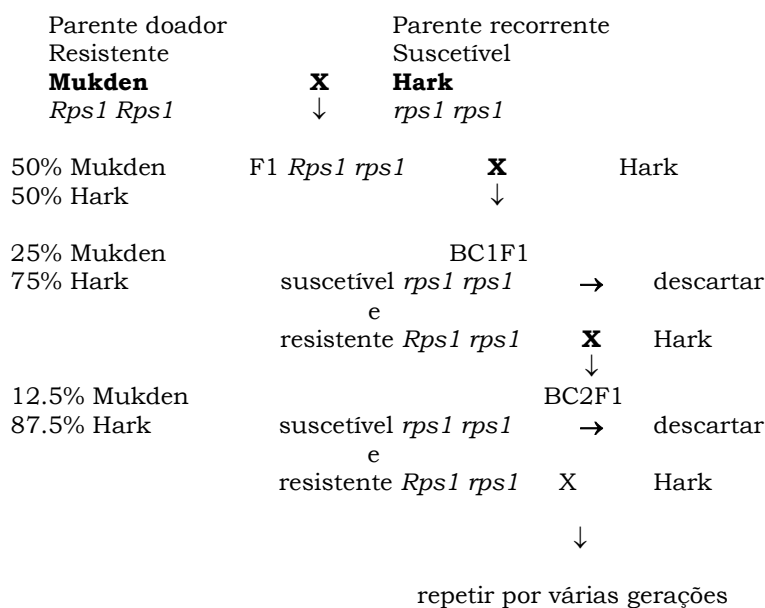


Figura 4. Esquema de retrocruzamento para incorporação do gene *Rps* de resistência a *Phytophthora megasperma* f.sp. *sojae* usando os cultivares Mukden e Hark, respectivamente, como parental doador e recorrente [segundo Camargo & Bergamin Filho (1995)].

4.2. Seleção de Resistência Oligo/ Poligênica

Os métodos de melhoramento de resistência oligo/poligênico não diferem dos demais utilizados para outras características agrônomicas

quantitativas. O melhoramento dá-se pelo acúmulo gradual de alelos favoráveis e pode ser acompanhado por meio de médias e variâncias. A principal consideração, é quanto ao tipo de reprodução da cultura, se alógama ou autógama (Tabela 3).

Tabela 3. Exemplos de culturas autógamas e alógamas.

Autógamas	Alógamas
alface	abacate
amendoim	alfafa
arroz	banana
aveia	brócolis
cevada	cebola
citros	centeio
ervilha	couve-flor
feijão	mamão
linho	manga
soja	melancia
sorgo	milho
tabaco	pepino
tomate	repolho
trigo	uva

4.2.1. Seleção em Plantas Alógamas

Em alógamas, os métodos de **seleção massal e de famílias** são muito utilizados para acumular genes de resistência. A seleção massal é a estratégia de seleção mais simples, onde os indivíduos mais resistentes são selecionados e suas sementes são colhidas e misturadas, originando uma nova população. O processo é

repetido, até que se obtenha o nível de resistência desejado.

Na cultura do milho, que faz uso intensivo de cultivares híbridas, depois que genes de resistência são acumulados em uma população, os melhores indivíduos são selecionados e auto-polinizados por várias gerações, até que atinjam elevados níveis de homozigose. Consegue-se, assim, linhagens homozigotas ou puras que poderão ser,

posteriormente, cruzadas entre si, gerando híbridos simples. Um híbrido simples, por sua vez, pode ser cruzado com uma terceira linhagem pura, gerando um híbrido triplo, ou com outro híbrido simples, gerando um híbrido duplo. A produção de cultivares híbridos corresponde, na verdade, a um processo similar ao do piramidamento, onde os genes de resistência de cada linhagem pura são combinados em híbridos.

4.2.2. Seleção em Plantas Autógamas

Os métodos de seleção em culturas autógamas devem se adequar ao sistema reprodutivo da planta. Nestas culturas, geralmente, a polinização cruzada é difícil de ser obtida na prática, o que eleva os custos do processo. Desta forma, a regra é reduzir os cruzamentos manuais ao mínimo indispensável.

Os métodos mais utilizados em programas de melhoramento para resistência são "pedigree" e "bulk". No primeiro caso (Figura 5), uma população F2 é estabelecida e os melhores indivíduos desta geração são selecionados. Estas plantas são autopolinizadas naturalmente, gerando famílias F3,

que serão avaliadas no campo. A seleção, a partir desta geração, é feita tanto dentro de famílias como entre famílias, isto é, os melhores indivíduos das melhores famílias são selecionados. As sementes oriundas do auto-cruzamento destes indivíduos selecionados irão compor a geração F4. A seleção inter- e intrafamiliar é repetida até, aproximadamente, a geração F6-F8. Quando estas gerações avançadas são atingidas, existe um alto grau de homozigose dentro de famílias devido aos sucessivos ciclos de auto-cruzamento. Entre famílias, porém, existe heterogeneidade. Assim, deste ponto em diante, a seleção passa a ser somente interfamiliar, com seleção de todos os indivíduos das melhores famílias. O método do "bulk" difere do pedigree, pois a semente dos indivíduos selecionados em cada geração são misturadas antes do início do ciclo seguinte. A seleção é baseada na performance individual de cada planta e não na performance de sua progênie. Este processo avança até a geração F6-F8 começando, a partir daí, a seleção inter- e intrafamiliar igual ao método do "pedigree". A vantagem deste método é que ele permite a manipulação de um maior número de plantas até o início da seleção interfamiliar.

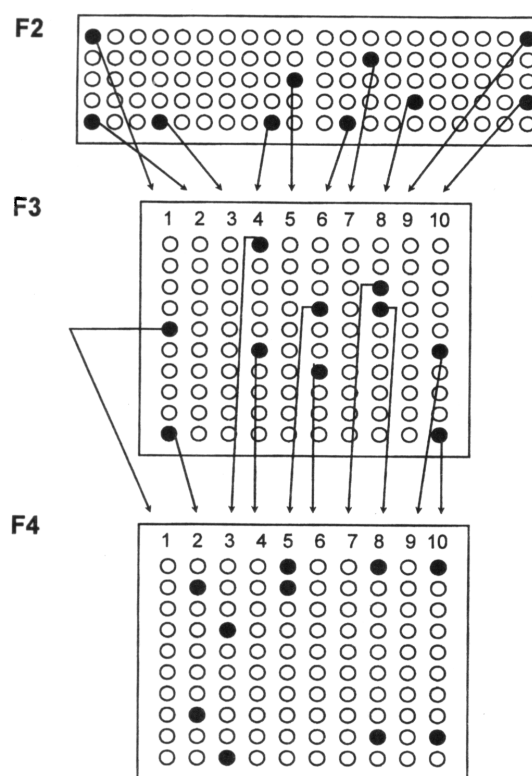


Figura 5. Esquema de seleção por "pedigree". Sementes dos 10 indivíduos F2 mais resistentes (círculos cheiros) foram coletadas e plantadas, originando 10 progênies F3 de 10 indivíduos cada. Dois indivíduos de cada uma das 5 progênies F3 mais resistentes foram selecionados (seleção inter- e intrafamiliar), originando progênies F4. O processo de seleção entre e dentro de famílias continua até a geração F6-F8. A partir daí, a seleção passa a ser somente entre famílias. O número de famílias e o número de indivíduos selecionados por geração pode variar, dependendo da pressão de seleção desejada [segundo Camargo & Bergamin Filho (1995)].

5. ESTRATÉGIAS DE USO DA RESISTÊNCIA VERTICAL MONOGÊNICA

Cultivares que possuem resistência vertical geralmente mantêm-se resistentes apenas por um curto período de tempo devido ao aparecimento (por mutação) e/ou à seleção de genes correspondentes de virulência na população patogênica. Em alguns patossistemas, a mudança na frequência de genes de virulência é extremamente rápida e pode ser detectada de um ano para outro. Existem algumas estratégias de utilização de genes de resistência vertical que podem, no entanto, prolongar sua vida útil. Para entender os mecanismos de atuação de tais estratégias na população faz-se necessário introduzir os conceitos de seleção estabilizadora e direcional.

5.1. Seleção Estabilizadora e Direcional

As estratégias que serão discutidas a seguir baseiam-se no princípio proposto por Vanderplank (1963) de que *“raças com genes desnecessários de virulência são menos aptas em sobreviver”*. O postulado de Vanderplank implica na presença de um mecanismo de **homeostase genética**, onde a frequência de genes de virulência em determinada população do patógeno, após ser perturbada por algum evento (como a introdução de um cultivar resistente), tende a reverter ao seu estado original quando da remoção do evento perturbador. Este mecanismo foi denominado por Vanderplank de **seleção estabilizadora**, em contraste com a **seleção direcional**, onde ocorre a seleção em direção à virulência. Imagina-se, como exemplo, que um cultivar *R1* de um hospedeiro qualquer esteja sendo cultivado numa grande extensão de terra. No início, ocorre seleção direcional favorecendo a raça que tem o genótipo suficiente para quebrar a resistência conferida por *R1*: a raça que contém o gene *1* de virulência. Se a cultivar for substituída por uma outra contendo os genes *R1* e *R2*, a população do patógeno, também por seleção direcional, passará a se constituir, em sua maioria, de indivíduos da raça contendo os genes *1* e *2* de virulência. Se, após algum tempo, a cultivar *R1R2* for substituída por *R1*, a raça (1,2) do patógeno, embora virulento em *R1*, estaria menos apta a se adaptar às novas condições do que a raça (1), pois carrega um gene desnecessário de virulência (o gene 2). Desta forma, ocorreria seleção estabilizadora favorecendo a raça (1), que voltaria a prevalecer no campo.

5.2. Piramidamento de Genes

O piramidamento de genes é uma estratégia de uso de genes de resistência vertical cujo objetivo é o de prevenir o aparecimento de novas raças do patógeno. Segundo esta estratégia, vários genes de resistência vertical são incorporados em um único cultivar. O sucesso do piramidamento depende da premissa de que a probabilidade de aparecimento

de uma “super-raça”, contendo todos os genes de virulência necessários para atacar esta combinação de genes de resistência, é muito baixa. Assim, quanto maior o número de genes incorporados, mais longa será a resistência do cultivar. No entanto, os críticos do piramidamento acreditam que o aparecimento de “super-raça” não é um evento tão raro, ainda mais sob a prática do piramidamento, uma vez que esta acaba impondo uma pressão direcional tremenda em favor das “super-raças”. Aparecendo uma “super-raça”, argumentam os críticos, os genes de resistência serão inutilizados de uma só vez, o que seria uma catástrofe.

O processo de obtenção de pirâmide de genes é muito lento e custoso, o que representa uma séria limitação da estratégia. O uso do piramidamento tem sido preconizado no controle da ferrugem do feijoeiro e utilizado em vários patossistemas.

5.3. Rotação de Genes

O princípio da rotação de genes é o mesmo da rotação de cultura usado no controle de certas doenças. O objetivo é o de reduzir a pressão da seleção direcional, reduzindo a pressão para o aparecimento de novas raças. Uma certa cultivar contendo um gene de resistência vertical *R1* é usado até que surja uma raça (1) capaz de quebrar sua resistência. Esta cultivar é então substituída por uma outra contendo um gene diferente de resistência (*R2*) que, por sua vez, será substituída quando do aparecimento da raça (2). Após alguns anos, retorna-se à cultivar *R1*, fechando o ciclo de rotação.

A rotação de genes foi utilizada na Austrália entre 1938 e 1950, no controle da ferrugem do colmo em trigo. Também foi recomendada como medida de controle de doenças do arroz pelo Instituto Internacional de Pesquisa do Arroz (IRR), em 1980. A estratégia requer um alto grau de cooperação por parte dos agricultores, o que pode representar um sério fator limitante, uma vez que o agricultor, geralmente, não é muito afeto a trocar, anualmente, de cultivar.

5.4. Multilinhas

As multilinhas são uma mistura de linhagens agronomicamente semelhante (ou quase idênticas), mas que diferem entre si por possuírem, cada qual, um diferente gene de resistência vertical. As multilinhas são o oposto da pirâmide de genes pois, na pirâmide, os genes são concentrados em um único indivíduo.

Multilinhas têm sido empregadas no controle de doenças de culturas autógamas, tais como trigo e aveia. A Fundação Rockfeller, por exemplo, lançou um programa de desenvolvimento de multilinhas de trigo para o controle da ferrugem do colmo. A primeira multilinha, denominada de Miramar 63, foi lançada na Colômbia, no início da década de 60. A multilinha era composta pelas dez linhagens mais resistentes selecionadas entre 1200

resultantes de 600 cruzamentos envolvendo o cultivar brasileiro Frocor. Dois anos após o início da utilização de Miramar 63, duas linhagens tiveram que ser substituídas, pois apresentavam níveis elevados da doença. Apesar disso, as perdas econômicas sempre se mantiveram abaixo de 20%.

6. RECENTES AVANÇOS NA RESISTÊNCIA DE PLANTAS A DOENÇAS

Nos últimos anos, graças principalmente ao desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, várias facetas das interações planta-patógeno foram desvendadas e com isso a resistência de plantas teve um tremendo impulso. A clonagem e caracterização de genes envolvidos na resposta de defesa forneceu pistas importantes a respeito da origem e evolução dos genes de resistência, além de abrir a possibilidade da transferência de genes entre espécies geneticamente incompatíveis, mediante transformação. É claro que ainda há um caminho enorme a ser percorrido para que determinados aspectos sejam totalmente compreendidos.

6.1. Genes que participam da resposta de defesa

Muitas vezes, a resistência é consequência de uma série de eventos que vai do reconhecimento do patógeno até a ativação de um conjunto de genes que codificam para produtos envolvidos nos mecanismos de defesa do hospedeiro. Nesse longo caminho, pelo menos três grupos de genes do hospedeiro devem ser destacados. Os **genes de reconhecimento**, que aparentemente codificam proteínas que reconhecem e ligam-se direta ou indiretamente a algum produto do patógeno. Esses

são normalmente denominados de genes R. O reconhecimento do produto do gene *avr* pelo produto do gene R leva à ativação de proteínas codificadas por **genes que atuam na transdução de sinais**. Possivelmente, a via de transdução leva à ativação uma classe de proteínas denominadas fatores de transcrição (FT). Os FT têm a capacidade de se ligar a sequências específicas do DNA (promotores) e estimular a transcrição dos genes próximos à sequência reconhecida, por interagir com a RNA polimerase. Como aparentemente os genes envolvidos numa determinada rota de defesa possuem promotores conservados, os FT determinam a expressão de todos os genes necessários para a resistência. Tais genes, que podem ser referidos como **genes de resposta** codificam para PR-proteínas, fitoalexinas e outros componentes de defesa.

6.2. Caracterização molecular de genes que conferem resistência a fitopatógenos

O desenvolvimento das técnicas de biologia molecular possibilitou a identificação, clonagem e sequenciamento de vários genes de plantas que conferem resistência a doenças. O primeiro gene de resistência clonado foi *Hm1* que confere resistência em milho à raça 1 de *Cochliobolus carbonum*. Os pesquisadores verificaram que *Hm1* codifica a enzima HC-toxina redutase que inativa a toxina HC, produzida por isolados de *C. carbonum* raça 1.

O gene *Pto* de tomate foi o primeiro gene de resistência clonado que segue o sistema gene-a-gene clássico. O locus *Pto* confere resistência a isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* que possuem o gene de avirulência *AvrPto*. Depois de *Pto*, vários outros genes, que conferem resistência aos mais diversos patógenos foram clonados e caracterizados (Tabela 4).

Tabela 4. Genes de resistência já clonados e caracterizados*.

Classe	Gene R	Hospedeiro	Patógeno	Gene <i>avr</i>	Característica da proteína R**
1	<i>Hm1</i>	Milho	<i>Cochliobolus carbonum</i> raça 1		HC toxina redutase
2	<i>Pto</i>	Tomate	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>avrPto</i>	Cinase intracelular
3a	<i>RPS2</i>	Arabidopsis	<i>P.s. pv. tomato</i>	<i>avrRPS2</i>	RRL, SLN, ZL
	<i>RPM1</i>	Arabidopsis	<i>P.s. pv. maculicola</i>	<i>avrRPM1</i>	RRL, SLN, ZL
	<i>I2</i>	Tomate	<i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	?	RRL, SLN, ZL
	<i>Mi</i>	Tomate	Meloidogyne spp.	?	RRL, NBS, ZL
	<i>Sw-5</i>	Tomate	Tospovirus	?	RRL, SLN
3b	<i>N</i>	Fumo	<i>TMV</i>	<i>Replicase</i>	TIR, RRL, SLN
	<i>L6</i>	Linho	<i>Melampsora lini</i>	?	TIR, RRL, SLN
	<i>RPP5</i>	Arabidopsis	<i>Peronospora parasistica</i>	<i>AL6</i>	TIR, RRL, SLN
	<i>HS^{Pro-1}</i>	Beterraba	<i>Heterodera sachtii</i>	?	TIR, RRL, SLN
4	<i>Cf-9, Cf-2, Cf-4, Cf-5</i>	Tomate	<i>Cladosporium fulvum</i>	<i>Avr9, Avr2, Avr4, Avr5</i>	Glicoproteína extracelular com RRL
5	<i>Xa21</i>	Arroz	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i>	<i>avrXa21</i>	Transmembrana com RRL e cinase

*Segundo Lima *et al.* (2000); **RRL = repetições ricas em leucina; SLN = sítio para ligação de nucleotídeos; ZL = zíper de leucina; TIR = domínio característicos de proteínas que atuam como sinalizadores celulares, como Toll de *Drosophilla* e Interleucina-1 de mamíferos.

6.4. Obtenção de resistência mediante engenharia genética

Para se introduzir um gene ou um conjunto de genes desejados por meio dos métodos clássicos de melhoramento, são necessários realizar cruzamentos entre plantas doadoras e receptoras, bem como uma série de 6 a 10 retrocruzamentos (RC), dependendo da distância genética entre os genitores. Esse processo demanda muito tempo, além de ser restrito a plantas que apresentam compatibilidade. Uma outra característica desfavorável é que mesmo em gerações avançadas de RC, cerca de 1 a 5% do genoma do doador é mantido no material comercial e nessa fração podem estar presentes características desfavoráveis. As técnicas moleculares se constituem, portanto, numa alternativa para vencer esses obstáculos. Por meio delas, pode-se conseguir desde a identificação até a transferência de um determinado gene de uma planta para outra, sendo a compatibilidade sexual irrelevante. Adicionalmente, o tempo consumido nesse processo é bem menor que o necessário pelos métodos convencionais e apenas a seqüência desejada é transferida. Pode-se também combinar os processos clássicos de melhoramento com as técnicas moleculares, por exemplo, a utilização marcadores para selecionar híbridos com a característica desejada e com menor fração do genoma do pai doador pode reduzir o número de RC de 10 a 12, para 5 ou 6.

A clonagem de genes R que atuam contra fitopatógenos que apresentam uma ampla gama de hospedeiros pode possibilitar sua introdução em outras espécies onde não se dispõem de um boa fonte de resistência. Um bom candidato para essa estratégia seria o gene *Mi*, pois confere resistência aos nematóides *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne arenaria*, importantes patógenos de muitas culturas. Dessa forma, sua expressão heteróloga poderia auxiliar a resolver o problema do nematóide das galhas em culturas como, café, feijão, soja, e muitas outras. Todavia, quando essa estratégia foi utilizada para a interação fumo x *Meloidogyne* spp., as plantas transformadas não expressaram qualquer nível de resistência, indicando que a resposta de resistência, nesse caso, é dependente de fatores adicionais que estão presentes no tomateiro mas ausentes no fumo. É possível que para uma outra solanácea a estratégia seja bem sucedida. É possível também que o sucesso seja alcançado mediante modificação *in vitro* do gene, ou da expressão do gene selvagem sobre o controle de um promotor mais forte. Resultados promissores foram

recentemente relatados, sendo demonstrado que a superexpressão do gene *Pto*, que confere ao resistência contra estirpes de *P. syringae* pv. *tomato*, resulta no aumento da resistência a vários outros patógenos, inclusive a bactéria *Ralstonia solanacearum*.

Outra possibilidade atraente de se obter resistência transgênica é mediante a expressão constitutiva de genes que codificam para proteínas que mostram atividade antifúngica *in vitro*. Entre estas, três grupos têm recebido destaque: β -1,3 glucanases, quitinases e proteínas inibidoras de ribossomos (RIP's). Os dois primeiros grupos, atuam na degradação de componentes da parede celular de muitos fungos, enquanto as RIP's inibem a síntese protéica de fungos mediante modificação da subunidade 28 S dos ribossomos.

Com relação aos fitonematóides, uma série de estratégias visando tornar as plantas mais resistentes estão em desenvolvimento. Uma dessas estratégias é a expressão de genes que codificam produtos antinematóides, como inibidores de proteinases, collagenases, ou toxinas. Outra possibilidade atraente é a transformação da planta com anticorpos monoclonais que reconhecem especificamente secreções injetadas através do estilete e dessa forma impedem o estabelecimento do sítio de alimentação.

6. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- AGRIOS, G.N. Control of plant diseases. In: AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.171-221
- BORÉM, A. Melhoramento visando resistência a doenças. In: BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 1997. 461-484.
- CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.729-760.
- LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P.; VALLE, L.A.C. Controle genético de doenças causadas por patógenos radiculares. In: MICHEREFF, S.J.; MENEZES, M. **Patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000. (no prelo).
- VALLE, L.A.C.; ALFENAS, A.C.; BROMMONSSCHENKEL, S.H. Resistência genética no controle de doenças de plantas. **Ação Ambiental**, Viçosa, n.5, p.20-23, 1999.