

IMPORTÂNCIA, PROBLEMAS E PERSPECTIVAS DO MELHORAMENTO VISANDO RESISTÊNCIA A VIROSES EM PLANTAS

IMPORTANCE, PROBLEMS AND PERSPECTIVES OF PLANT BREEDING CONCERNING RESISTANCE TO VIRUSES

Rosa Lía Barbieri¹ Fernando Irajá Félix de Carvalho²
Luiz Carlos Federizzi²

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

As viroses são um sério problema para a agricultura, podendo se tornar um fator limitante para o desenvolvimento de determinadas espécies. Medidas de controle, como a eliminação dos vetores, o uso de material sadio, a rotação de culturas e a erradicação de plantas infectadas são apenas soluções temporárias. A mais eficiente estratégia de controle envolve o uso de cultivares melhoradas para resistência ao vírus ou a seu vetor. A reduzida disponibilidade de fontes de resistência pode ser aumentada através da tecnologia do DNA recombinante, que traz novas perspectivas para o melhoramento de plantas resistentes a viroses.

Palavras-chave: melhoramento genético, viroses, DNA recombinante.

SUMMARY

Virus diseases are a serious problem to agriculture, can be a limitant factor to normal development of some crops. Control measures, like vectors elimination, healthy

material use, culture rotation and infected plants eradication, are only transient solutions. The more efficient approach for control involves plant breeding resistant to virus or its vector. Reduced availability of resistance source can be increased through recombinant DNA technology, which brings new breeding perspectives to virus resistant crops.

Key words: plant breeding, plant viruses, recombinant DNA.

INTRODUÇÃO

Os vírus ocupam o segundo lugar, entre os vários patógenos de plantas, no que se refere aos prejuízos devido às molestias que eles causam nas diversas culturas, perdendo somente para os fungos. Estas perdas diferem grandemente entre e dentro de diferentes países e regiões. Geralmente são afetados mais seriamente os países em desenvolvimento que são dependentes de uma ou pouca culturas maiores, e onde as medidas de controle são inadequadas (MATTHEWS, 1991).

¹Biólogo, aluna de Mestrado do Curso de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Bolsista da CAPES, Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, Caixa Postal 776, 95501-970, Porto Alegre, RS. Autor para correspondência.

²Engenheiro Agrônomo (PhD.), Professor Pesquisador do CNPq. Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS.

Na história da patologia de plantas, o impacto epidemiológico dos vírus não foi tão acentuado quanto o dos fungos. No entanto, os vírus e seus vetores podem aumentar, em determinadas épocas do ano e em algumas regiões, ao nível de se tornarem fatores limitantes para o desenvolvimento de uma determinada cultura. COSTA & MÜLLER (1982) citam vários casos de mudanças definitivas no padrão das espécies cultivadas em algumas áreas da América Latina, devido a moléstias causadas por vírus. No início deste século, o vírus do mosaico reduziu a menos da metade a produção de cana-de-açúcar nos países latino-americanos; a retomada da produção somente ocorreu anos mais tarde, com a introdução de variedades resistentes de Java e da Índia e, depois, com novas variedades desenvolvidas em estações de melhoramento em vários países onde o vírus havia se tornado endêmico. O vírus da tristeza dos citros foi introduzido a partir da África na década de 30, e como seu afídeo vetor já estava presente e amplamente disseminado na Argentina, Brasil e Uruguai, a dispersão da tristeza foi muito rápida, em menos de quinze anos invadindo praticamente todas as áreas produtoras de citros da América Latina. A tentativa de desenvolver uma indústria de açúcar de beterraba no Chile e na Argentina fracassou no passado devido aos danos impostos à espécie pelo encrestamento da folha, uma virose, e pela murcha amarela, moléstia causada por um micoplasma.

É difícil, no entanto, obter dados tanto das perdas diretas da cultura devido a viroses como do custo do controle. Existe uma ampla variação na extensão das perdas em diferentes culturas, estações do ano e regiões. Em espécies perenes, quando uma moléstia é letal ou atrofiante, pode ter sérias conseqüências devido ao tempo e ao espaço investidos em tais culturas, como é o caso dos citros atacados pelo vírus da tristeza. Em espécies anuais propagadas por sementes, a severidade de uma moléstia particular pode variar intensamente de estação para estação. Em plantas com reprodução vegetativa, uma infecção com estirpes atenuadas de vírus pode ser disseminada e reduzir progressivamente o desempenho da cultura a cada ano (MATTHEWS, 1991).

As medidas de controle utilizadas visam reduzir as fontes de infecção dentro ou fora da cultura, limitar a disseminação de vetores e minimizar o efeito da infecção na produção. De modo geral, tais medidas não oferecem nenhuma solução permanente para o problema das moléstias causadas por vírus (MATTHEWS, 1991). Apesar da considerável pesquisa na área, não existe nenhum composto que possa ser aplicado rotineiramente para controlar de forma direta os vírus que atacam as plantas. A toxicidade e os custos elevados tornam inviável a comercialização de compostos antivirais (FRASER, 1992). Além disso, como os vírus não têm metabolismo próprio e são intimamente dependentes do hospedeiro para sua multiplicação, qualquer composto que bloqueie a multiplicação viral também afetará o desenvolvimento da célula hospedeira (VICENTE & DE FAZIO, 1982).

Em espécies perenes e plantas de reprodução vegetativa procura-se plantar material sadio e/ou erradicar as plantas infectadas. As desvantagens deste procedimento residem nas dificuldades de detecção de plantas infectadas e nos problemas econômicos e sociais derivados de esquemas rígidos de erradicação. O controle das viroses em espécies anuais envolve diversas técnicas culturais que incluem o planejamento da época de plantio, para não coincidir com o período de maior abundância dos vetores do vírus, a erradicação de ervas daninhas e outras fontes de vírus, a rotação de culturas e o uso de produtos químicos para o controle do vetor. Estes procedimentos podem não ser eficazes se houver mudanças nas condições climáticas ou em técnicas culturais que afetem a epidemiologia do vírus. O controle químico dos vetores do vírus, além de ser dispendioso, traz o problema da toxicidade para o ambiente (HULL, 1994).

Outra medida de controle utilizada, que oscila entre as categorias de técnica cultural e de resistência, é a proteção cruzada, obtida através do uso de estirpes atenuadas de um vírus visando evitar a infecção por uma estirpe severa do mesmo. Este método apresenta alguns problemas: a estirpe atenuada pode mutar e se tornar severa, principalmente quando existe um deficiente controle de qualidade do inóculo, e a infecção por um outro vírus em plantas inoculadas com a estirpe atenuada pode levar a um efeito sinérgico (HULL, 1994).

O melhoramento para resistência aos vírus ou a seus vetores é, atualmente, a mais eficiente estratégia de controle a longo prazo das moléstias virais (MATTHEWS, 1991; HULL, 1994). No entanto, há relativamente poucas fontes de resistência natural para as viroses das principais culturas (MATTHEWS, 1991; FRASER, 1992) e a resistência ao vetor do vírus não garante durabilidade no campo, devido às variações na população do vetor (HULL, 1994). Na última década, o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante abriu novas perspectivas para o melhoramento de plantas resistentes a viroses. Tornou-se possível a transferência de genes de resistência através das fronteiras entre espécies, gêneros e famílias de plantas, possibilitando também formas de resistência derivadas do próprio patógeno (MATTHEWS, 1991; HULL, 1994). Por ser tão recente, apresenta ainda uma série de dificuldades, que serão discutidas.

DESENVOLVIMENTO

O melhoramento para resistência a viroses pode operar indiretamente, pelos efeitos no vetor, ou diretamente, pela prevenção da multiplicação do vírus ou evitando seus efeitos deletérios na planta (FRASER, 1992; HULL, 1994). A resistência direta ao vírus mais utilizada pelos melhoristas é controlada por um único locus gênico, apesar de sistemas mais complexos serem conhecidos (FRASER, 1992).

A atratividade exercida pela planta sobre o vetor pode ser afetada por características do hospedeiro, tais como pêlos ou superfícies foliares resistentes, pela cor da folhagem e pela presença na seiva de substâncias anti-alimentares que reduzem o tempo de alimentação do vetor e assim o tempo para aquisição ou transmissão do vírus. Estas características estão sob controle genético e são muito variáveis na extensão de acesso ao melhorista (FRASER, 1992).

Para viroses que afetam culturas anuais e são transmitidas através de sementes, a resistência a esta forma de transmissão pode ser uma alternativa para limitar a infecção no campo. Um exemplo é o gene recessivo de resistência à transmissão por sementes do vírus do mosaico listrado em cevada (MATTHEWS, 1991).

No entanto, antes de se investir tempo e recurso em um programa de melhoramento para resistência a viroses é importante que os possíveis ganhos na produtividade sejam muito bem avaliados. MATTHEWS (1991) cita itens importantes a serem observados, como a severidade da virose em relação a outros fatores limitantes da produção, a "qualidade" dos genes de resistência disponíveis (há genes bastante duráveis e outros bastante frágeis, fáceis de serem vencidos pelo vírus) e a importância da espécie cultivada. Além disso, a obtenção de uma variedade resistente a uma virose, que levaria a um aumento de forma direta no rendimento, pode ser acompanhada por perda de qualidade, como aconteceu com algumas cultivares de fumo resistentes ao vírus do mosaico do tabaco.

Como foi citado anteriormente, um dos grandes problemas do melhoramento para resistência é a reduzida disponibilidade de fontes de resistência. Em comunicação pessoal a FRASER (1992), J.A. Tomlinson listou 25 viroses que afetam 22 espécies de olerícolas na Grã-Bretanha, sendo que nenhum gene para resistência a estas moléstias era conhecido. Em outras culturas, a base genética da resistência é muito estreita, e pode ser facilmente erodida pela evolução de formas virulentas (FRASER, 1992). Existe então a necessidade de avaliar as coleções de recursos genéticos de várias partes do mundo, as possíveis raças locais e as espécies silvestres relacionadas como fontes de novos genes (MATTHEWS, 1991). Ocasionalmente é encontrada uma fonte de resistência útil entre uma coleção de mutantes induzidos por meios químicos ou físicos. A cultura de tecidos e de protoplastos também pode oferecer algumas possibilidades para obter novas fontes de resistência a vírus, através da variação somaclonal e da fusão de protoplastos para hibridização interespecífica (MATTHEWS, 1991; FRASER, 1990). No entanto, MATTHEWS (1991) ressalta que até 1991 nenhuma cultivar resistente a vírus com sucesso comercial havia sido derivada por este processo.

O uso de marcadores, como RFLPs ou isoenzimas, auxiliando na monitoração, pode aumentar indiretamente a velocidade com a qual um gene de resistência de

uma espécie silvestre possa sofrer introgressão em variedades de interesse agrônomo, evitando a necessidade de extensos programas de retrocruzamento (FRASER, 1990). Este método possibilita a construção de sistemas de resistência oligogênica, que podem ser mais difíceis para o vírus conseguir vencer (FRASER, 1990; FRASER, 1992).

As variedades ou linhagem de plantas que revelam resistência em experimentos preliminares devem ser testadas sob várias condições climáticas, diversas estirpes do vírus e diferentes pressões de inoculação. Uma vez que uma substancial população de plantas resistentes seja exposta no campo, existe uma grande probabilidade que uma nova estirpe do vírus se desenvolva através de evolução, ou então seja introduzida, vencendo assim a resistência. Desta forma, mesmo quando uma variedade aparentemente bem sucedida é obtida através do melhoramento, é de extrema importância que se mantenham técnicas culturais que visem minimizar o contato da variedade com o vírus em questão (MATTHEWS, 1991).

O melhorista de plantas convive também com outros desafios neste campo: a descoberta de novas viroses, a dispersão de vírus e seus vetores a novas áreas geográficas (FRASER, 1992), e a necessidade de combinar resistência múltipla a moléstias virais, fúngicas e bacterianas, mantendo o rendimento e a qualidade (MATTHEWS, 1991). FRASER (1992) analisa as possíveis mudanças no ambiente global a longo prazo, com o aumento da concentração de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera levando a um aumento da temperatura, o que pode influir nas interações entre plantas e vírus. Ele enfatiza que muito pouco é conhecido sobre os possíveis efeitos do aumento de CO₂ na multiplicação dos vírus, na produção agrícola e na operação dos mecanismos de resistência, sendo que vários destes são termo-sensíveis. Mesmo uma mudança de poucos graus na temperatura global pode ter efeitos maiores na dinâmica da população dos insetos vetores, afetando intensamente as interações planta x vírus.

Um recente avanço conceitual proporcionou o desenvolvimento de um conjunto completamente novo de genes, responsáveis pelo que está sendo denominado de resistência derivada do patógeno ou de proteção não-convencional (MATTHEWS, 1991; HULL, 1994). Em 1985, Sanford e Johnston estabeleceram as idéias básicas: se alguém compreendesse as interações moleculares envolvidas no funcionamento do patógeno, poderia imaginar mecanismos que interferissem nesse funcionamento. HULL (1994) salienta que dois fatores tiveram forte impacto no desenvolvimento da proteção não-convencional: houve grandes expansões no entendimento da organização e função dos genes dos vírus, com seqüenciamento completo de membros de pelo menos 30 dos 37 grupos de vírus que atacam plantas; e os avanços nos métodos de introdução de DNA exógeno no genoma das plantas, tornando as técnicas de transformação praticamente rotineiras para várias dicotiledôneas.

O termo proteção não-convencional abrange vários métodos que interferem de diversas formas em alguma fase do ciclo de infecção viral. É possível fazer uma analogia da estratégia como sendo um ataque de "alvos" específicos no vírus através de "balas" moleculares específicas. Os alvos podem ser agrupados em produtos de genes do vírus (proteína da capa, replicase, a função de disseminação de uma célula a outra, a função de disseminação de uma planta a outra, protease) ou em seqüências-controle envolvidas na replicação ou expressão de um gene. As balas podem ser produtos do próprio gene do vírus, genes artificiais ou seqüências que interferem com o alvo. Estas balas são inseridas via transformação no genoma da planta, na forma de uma seqüência de ácido nucléico e serão, então, herdadas (HULL, 1994). Alguns destes sistemas vêm sendo usados com resultados animadores, enquanto outros continuam no estágio teórico. A resistência mediada pela proteína da capa do vírus é a que tem sido mais extensivamente testada. A acumulação da proteína da capa em plantas transgênicas confere resistência a moléstias causadas pelo vírus do qual o gene em questão foi derivado, e pelos vírus a ele relacionados (BEACHY et al., 1990; MATTHEWS, 1991). O nível de proteção varia de completa imunidade até o atraso e redução de sintomas (HULL, 1994). Este método vem sendo usado desde 1986, envolvendo espécies de Solanaceae e Leguminosae, sendo testado com sucesso para mais de 20 viroses. No entanto, a questão de como a proteína da capa confere a resistência ainda não foi esclarecida (BEACHY et al., 1990; HULL, 1994).

Os testes de campo com as plantas transformadas são extremamente importantes. O teste real da efetividade da proteção proporcionada por seqüências relacionadas a vírus só pode ser realizado sob diversas condições de solo e clima, e em locais de alta incidência da infecção natural. Este processo resultará na fusão de técnicas de biologia molecular com os métodos tradicionais de melhoramento de plantas (BEACHY et al., HULL, 1994).

CONCLUSÃO

As viroses são um sério problema para a agricultura, causando redução significativa na produtividade das espécies cultivadas pelo homem. A busca por novas fontes de resistência a viroses e sua incorporação em variedades agronomicamente úteis é um processo contínuo e de longo prazo, em que o melhorista deve estar atento às necessidades locais e nunca perder de vista as perspectivas futuras.

A tecnologia do DNA recombinante promete auxílio na resolução de alguns problemas enfrentadas pelo

melhoramento tradicional. Entretanto, por serem tão recentes e envolverem a manipulação direta do genoma das plantas, o uso dos métodos não-convencionais requer estudos e testes adicionais antes que uma variedade resistente seja recomendada para o cultivo. A própria liberação para os testes de campo envolve vários aspectos a serem considerados, como a possibilidade de interações não esperadas entre o transgene e um outro vírus que poderia superinfestar a planta; um possível efeito fisiológico da expressão do gene exógeno sobre a capacidade produtiva ou outras propriedades da planta (HULL, 1994); e o risco de ocorrer fecundação cruzada com alguma espécie silvestre relacionada, transferindo o transgene e perdendo o controle sobre ele.

Assim, apesar das novas possibilidades apresentadas pela tecnologia do DNA recombinante, é evidente que continuará a existir um papel maior para os genes de resistência "convencionais" na proteção de plantas cultivadas às moléstias causadas pelo vírus. Além disto, o controle das moléstias virais nos sistemas agrícolas só será efetivo quando houver uma integração entre técnicas culturais e uso de variedades melhoradas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEACHY, R.N., LOESCH-FRIES, S., TUMER, N.E. Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Annu Rev Phytopathol*, Palo Alto, v. 28, p. 451-474, 1990.
- COSTA, A.S., MÜLLER, G.W. General evaluation of the impacts of virus of economics crops on the development of Latin America countries. In: PRIMEIRA CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE O IMPACTO DAS DOENÇAS VIRAIS NO DESENVOLVIMENTO DOS PAÍSES LATINO-AMERICANOS E DA REGIÃO DO CARIBE, 1982. Rio de Janeiro, RJ. *Anais...* v. 1, p. 216-230, 1982.
- FRASER, R.S.S. The genetics of resistance to plant viruses. *Annu Rev Phytopathol*, Palo Alto, v. 28, p. 179-200, 1990.
- FRASER, R.S.S. The genetics of plant-virus interactions: implications for plant breeding. *Euphytica*, Wageningen, v. 63, p. 175-185, 1992.
- HULL, R. Resistance to plant viruses: obtaining genes by non-convencional approaches. *Euphytica*, Wageningen, v. 75, p. 195-205, 1994.
- MATTHEWS, R.E.F. *Plant Virology*. 3 ed., San Diego: Academic Press, 1991. 835 p. 1991.
- VICENTE, M., DE FAZIO, G. Quimioterapia de fitoviroses. In: PRIMEIRA CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE O IMPACTO DAS DOENÇAS VIRAIS NO DESENVOLVIMENTO DOS PAÍSES LATINO-AMERICANOS E DA REGIÃO DO CARIBE, 1982. Rio de Janeiro, RJ. *Anais...* v. 1, p. 298-307, 1982.