

## Material Didáctico Multimédia de Genética e Biotecnologia Vegetal



[www.institutovirtual.pt/edu-agri-biotec](http://www.institutovirtual.pt/edu-agri-biotec)



FUNDAÇÃO  
CALOUSTE  
GULBENKIAN

Projecto integrado no "Programa de Apoio a Projectos de Pesquisa no Domínio Educativo 2001", do Serviço de Educação e Bolsas da Fundação Calouste Gulbenkian.

«Infelizmente, demorará muito tempo até que o conhecimento, a compreensão e o engenho humanos se comparem se alguma vez a tal puderem aspirar à 'esperteza' de vários milhares de milhões de anos de evolução biológica. Não só os organismos individuais evoluíram os seus próprios modos e os seus padrões especiais e intrincados de vida, mas também as interações de enormes números de espécies no seio de ecossistemas se submeteram a delicados ajustamentos mútuos ao longo de grandes períodos de tempo.» Gell-Mann M. (1997)

### Ficha temática n.º3 Protecção de Plantas

A Protecção de Plantas foi progredindo à medida que foram sendo realizados estudos científicos sobre os organismos que eram descritos como «inimigos das plantas». Considera-se que os antecessores dos actuais utilizadores de **'pesticidas'** químicos surgiram cedo na história: há cerca de 4000 anos alguns povos terão usado enxofre no controle de insectos e aranhas. Os Romanos terão recorrido a muitas fórmulas que combinavam enxofre e azeite no controle de pestes. Existem registos históricos sobre o uso de ervas, óleos e cinzas na protecção de sementes e grãos armazenados. Está também documentado o recurso à **'luta biológica em culturas de citrinos'**. Em Portugal ocorreu, em 1896, a introdução da **'joaninha'** (figura 1) *Rodolia cardinalis* para combater a lécera (*Icerya purchasi*), uma cochonilha dos citrinos. A luta biológica pode ser, de modo simples, resumida num 'slogan': «os inimigos dos nossos inimigos são nossos amigos!». A luta biológica teve um grande desenvolvimento na 2ª metade do século XIX quando um melhor entendimento da interacção de organismos (particularmente sobre inimigos naturais de insectos) coincidiu com a necessidade resolver graves epidemias causadas por insectos 'imigrantes' (insectos levados nas rotas das transacções comerciais).

Uma doença é o resultado de uma interacção dinâmica de dois organismos: um hospedeiro e o **'patogénio'**, dizendo-se que uma planta está doente quando é afectada por um patogénio. Os sintomas ou danos visíveis podem ser descritos em termos qualitativos e quantitativos (ex.: alterações na pigmentação; nº ou % de lesões). As doenças nem sempre implicam reduções nas produções, sendo muitas vezes afectados aspectos qualitativos dos produtos. (nota: infecção não é sinónimo de uma doença).

Diz-se que uma planta é **'resistente'**, se mostra ser menos afectada por um patogénio do que outra planta da mesma espécie, podendo existir várias razões para que isso suceda. Uma planta que seja não-resistente é então susceptível. Só podemos dizer que há **'resistência'**, nos casos em que ela é **'hereditária'**. Na realidade, foi desde muito cedo reconhecido um facto interessante: uma variedade resistente era capaz de originar sementes resistentes. A prova definitiva terá surgido na sequência dos trabalhos realizados por Biffen, em cereais sobre o grau da sua susceptibilidade à doença 'ferrugem amarela' (*Puccinia glumarum Erikss*), pois foi possível avaliar que essa susceptibilidade (não-resistência) 'seguia' as Leis da Hereditariedade de Mendel! Posteriormente várias hipóteses foram sendo avançadas para explicar em termos genéticos as interacções planta & patogénio. (por ex.: a hipótese 'gene- a-gene', do investigador Flor). Actualmente foram já identificados inúmeros genes de resistência -**genes R**- em diversas plantas.

É provável que o cultivo em larga escala numa cultura de plantas resistentes venha a afectar a população dos patogénios, a qual pode ser reduzida, mas nem sempre totalmente eliminada. A dinâmica plantas hospedeiras & patogénios pode resultar de milhões de anos de evolução conjunta (ou co- evolução). Nessas dinâmicas, pode suceder que, mais cedo ou mais tarde, a resistência da planta se torne 'não- satisfatória'... permitindo um alastramento da doença, que nos casos mais graves se designa por **'epidemia'**. Nos sistemas dinâmicos, nada é definitivo e nenhuma solução é para sempre a melhor...Por isso, a investigação destes assuntos nunca se pode considerar como acabada.

Quando se usam os termos 'praga' ou 'peste' (em inglês *pest*) referimo-nos a casos em que um agente prejudicial (por ex.: gafanhotos, libelinhas, ratos, etc.) alcança um nível em que causa, ou pode vir a causar, danos económicos ao nível dos vegetais ou seus produtos, ou então danos ecológicos quando se perturba o equilíbrio biológico do espaço natural. Em livros de História são referenciados alguns episódios de epidemias, pragas e pestes que destruíram por completo culturas agrícolas levando à fome e à morte das populações dessas regiões afectadas. As implicações podem ser de outro tipo, muito menos grave, como por exemplo: quando os prados dão lugar a prédios! De facto, a famosa zona de 'Long Island' terá sido urbanizada após um 'ataque implacável' do **'nemátodo dourado da batateira'** ter tornado essa zona imprópria para culturas agrícolas (figura 2).

Também ficaram célebres, alguns episódios na Viticultura causados por **'fungos'** (figura 3a): o aparecimento na Europa do **'Oídio'**, em 1845 (seguido de uso de enxofre como fungicida, 1848); ou o caso ocorrido em França dum severo ataque de **'Mildio'** por volta de 1879 (seguido da descoberta, em 1882, do valor fungicida numa mistura que continha, entre outros componentes, o sulfato de cobre).

#### Notas

**Pesticidas** - conjunto de inúmeros produtos usados em medidas de combate (por exemplo: aos insectos, a diversos patogénios, aos ratos, às lesmas, entre outros) cuja classificação em diversos grupos é descrita nos «Guias de Produtos Fitofarmacêuticos» (por ex.: Insecticidas, Acaricidas; Fungicidas; Moluscicidas; Nematodocidas; Rodenticidas; Herbicidas, entre outros).

**Luta biológica** - estratégia em que algumas espécies predadoras das espécies causadoras dos danos às culturas são introduzidas como 'inimigos naturais'. Como auxiliam na luta ou combate aos inimigos recebem o nome de auxiliares.

A **'joaninha'** é um coleóptero coccinélido e devido à sua utilidade na luta biológica tornou-se de tal modo célebre, que a sua imagem é usada em 'publicidade', ilustrações e logótipos. Existem muitas espécies diferentes de joaninhas.



Figura 1 - As Joaninhas são úteis em luta biológica.

A **'resistência'** pode manifestar-se de várias formas e pode ser avaliada ao nível de: uma planta, uma parcela ou um campo de cultura. A estes dois níveis parcela ou campo- deve ser registada a dispersão da doença ao longo do tempo, dado que uma dispersão lenta pode ser uma indicação de resistência.

**Genes R**-genes existentes nas plantas responsáveis pela característica de Resistência dessa planta a um dado agente patogénio. Alguns exemplos: gene Hm1, no milho; gene RPS 2, em arábido e os genes: PTO, Cf9 e N, no tomate.



Figura 2 - Aspecto de um Nemátodo.

**Nemátodo** - ser microscópico com formato de 'minúsculo verme' que pode ser parasita de plantas (regra geral, tem duas fases no seu ciclo de vida: uma no solo, e outra na planta). No solo pode estar a 3-20 cm de profundidade (ou a 1 ou mais metros!). Depois ataca as plantas hospedeiras (alimenta-se através dum estilete bucal e perfura as paredes celulares de diversos órgãos: raízes, por ex.).

**Fungos** - vasto grupo de organismos cuja classificação é objecto da 'sistemática micológica'. As inúmeras espécies são estudadas em relação à sua morfologia, patogénicidade, ciclo de vida, mutabilidade, fisiologia, entre outros aspectos. Das doenças causadas por fungos (também conhecidas por doenças criptogâmicas) são bem conhecidas: o **'Mildio'** e o **'Oídio'**.

#### Notas

As doenças causadas por **'bactérias'** (figura 3b) são bacterioses. Os termos vulgares pelos quais essas doenças são conhecidas podem indicar qual a planta atacada, como por exemplo: cancro-do-freixo; cancro-do-tomateiro; tuberculose-da-oliveira; pé-preto da batateira; pinta-da-vagem (feijão); manchas-das-folhas-da-begónia; mancha-dos-limões, etc.

A dimensão trágica do ataque dum insecto -**'Floxera'**- aos vinhedos europeus ficou conhecida como **'A Crise Filoxérica'**, que terá progredido em Portugal (ca. de 1865), desde o Norte para quase todo o território... à excepção da zona de Colares (região de Sintra) onde as vinhas instaladas em solo arenoso resistiram à praga. Apenas aí não foi necessária a ajuda da melhor solução encontrada: recorrer a porta-enxertos americanos resistentes ao insecto.

Para além das doenças e pragas, devemos ter em conta um outro aspecto: «Entre os vários inimigos das plantas cultivadas que o agricultor tem que combater avultam como de grande importância as ervas daninhas. Concorrentes para os nutrientes do solo e até a água, as **'ervas daninhas'** ocupam também espaço e ensombram as plantas da cultura, reduzindo, por todas essas acções, a produção útil.» (M. Mota, 1986). Para a resolução destes diversos problemas o agricultor foi necessitando de recorrer a diferentes grupos de pesticidas (por ex.: a Herbicidas no combate às infestantes ou ervas daninhas). Os diversos pesticidas iam solucionando os problemas, mas causando também poluição... e alguns problemas de saúde pública... De facto, na civilização moderna, os pesticidas, tal como tantos outros produtos mostravam ter duas faces: a dos benefícios e a dos riscos! O estudo dos efeitos secundários dos pesticidas (toxicidade para: o Homem, animais domésticos e meio-ambiente) é então crucial na escolha dos de menor toxicidade e menor risco ambiental.

A fase de forte dependência de produtos agroquímicos durante os anos de 1940-80, designou-se "fase do quimismo" e originou os intitulados "problemas dos 3-R": resistência, ressurgência e resíduos. Estes problemas fizeram emergir, nas décadas de 1960-70, o "ambientalismo" e a **'Protecção Integrada'**. No "ambientalismo" são considerados a renovação, a durabilidade ou persistência dos recursos e também a produtividade dos sistemas para as gerações futuras. As questões ambientais, sempre actuais (figura 4), estão ligadas à 'equidade entre gerações' (do inglês "intergenerational equity"), termo usado para designar a herança ambiental que deixamos aos nossos descendentes.

Na protecção de plantas e culturas o agricultor pode recorrer a uma série de medidas que se complementam: medidas que visam prevenir as doenças- Medidas Preventivas («Mais vale prevenir do que remediar»), medidas que visam combater a doença- Medidas Curativas («Não há mal que sempre dure») para além de Medidas Culturais (boas práticas agrícolas: profundidade das lavouras; rotações com pousios; redução de aplicações de químicos). Mas «as plantas também se sabem defender a si próprias», por mérito próprio ou, mais recentemente por mérito da engenharia genética, que as tenta modificar para se 'auto-defenderem'...

Uma forma comum de defesa usada pelas plantas baseia-se na capacidade de nelas se formar um vasto conjunto de **'metabolitos secundários'** tóxicos ou biocidas, que naturalmente lhes dão protecção contra inúmeros organismos que as atacam ou que com elas competem. A biossíntese dos metabolitos secundários nas plantas envolve muitos passos enzimáticos e portanto depende de muitos genes (poligénica) pelo que é mais trabalhosa a engenharia genética nestes casos comparativamente aos que envolvem apenas um gene (monogénica) ou poucos genes.

**Ou seja:** A obtenção de plantas transgénicas (com o objectivo de as tornar resistentes a um dado patogénio, ou com outro objectivo qualquer) pode seguir vias muito diferentes, umas mais simples, outras menos. **É fácil entender que:**

(i)- tudo se torna mais simples nos casos em que apenas 1 (ou 2) gene(s) esteja(m) envolvido(s) na manifestação da característica que se pretende obter (um gene R, que dê resistência a uma dada doença).

(ii)- tudo se complica quando estão vários genes envolvidos (vários genes responsáveis por vias do metabolismo secundário que dêem metabolito(s) tóxicos de utilidade na protecção a patogénios).

De entre os vários produtos investigados como modelo para pesticidas vejamos este caso: os crisântemos africanos contêm uma molécula insecticida- o piretro. Havia que a extrair e

**Bactérias**- vasto grupo de organismos procaríotas. A bactéria melhor estudada é a *Escherichia coli* (E. Coli), que pode ser facilmente mantida em cultura em soluções aquosas de glicose e íons inorgânicos, à temperatura de 37°C.



Figura 3a - Aspecto de cultura de Fungos (em caixa petri).



Figura 3b - Imagem de bactérias (obtidas por Microscopia Óptica).

**Protecção Integrada**- pode ser considerada como o resultado dum combinação criteriosa de meios culturais, biológicos e químicos de que o agricultor dispõe no combate a doenças, pragas e infestantes de forma económica, eficaz e compatível com o meio ambiente.



Figura 4 - As populações de borboletas são estudadas pelos ecologistas nos seus trabalhos sobre efeitos dos pesticidas em organismos 'não-alvo'. Um caso muito recente e publicitado incluiu a borboleta-monarca e plantas transgénicas resistentes a insectos.

**Metabolitos secundários**- termo usado um vasto grupo de compostos orgânicos que não estão directamente envolvidos no metabolismo primário das plantas (o qual inclui a fotossíntese, a respiração ou a biossíntese de proteínas). O metabolismo secundário é mais complexo que o metabolismo primário, tal como o trânsito numa grande cidade (com viadutos, túneis, cruzamentos, semáforos) o é relativamente ao trânsito de uma vila sossegada!

aproveitar! Mas um contratempo surgiu: quando essa molécula era extraída da planta acabava por se degradar por acção da luz... Então ela apenas pôde ser útil ao «servir de modelo» para o fabrico industrial dos 'piretróides sintéticos'. Para além do caso dos crisântemos merece destaque este outro caso: a árvore tropical *Azadirachta indica*, das *Meliaceae*; cujo nome em inglês é 'neem-tree' (figura 5) possui um composto terpénico activo contra mais de uma centena de espécies de parasitas!!

[www.neemfoundation.org](http://www.neemfoundation.org)  
[www.theneemtree.com](http://www.theneemtree.com)  
[www.neemtreefarms.com](http://www.neemtreefarms.com)

Ainda relativamente a produtos biológicos com capacidade insecticida é célebre o caso das proteínas cristalinas tóxicas da bactéria *Bacillus thuringiensis*, conhecida pelas suas iniciais «Bt». Inicialmente as estirpes de Bt conhecidas eram usadas apenas na luta contra lepidópteros ('borboletas'). Pesquisas dum maior número de estirpes de Bt revelaram-nas eficazes também contra dípteros e coleópteros. As principais proteínas tóxicas produzidas pelas estirpes de Bt são designadas **toxinas Cry** (em inglês 'crystal') e são codificadas pelos **genes cry**. Existem produtos fitofarmacêuticos (que contêm mistura de esporos secos e de toxinas, figura 6) que representam cerca de 1% no mercado agroquímico global. Os genes cry são usados nos protocolos de obtenção de **plantas transgénicas resistentes a insectos**. Um exemplo destas plantas é o Milho Bt, resistente à 'broca europeia do milho' (em inglês *Bt Corn resistant to ECB- European Corn Borer*).

Também existem **plantas transgénicas resistentes a vírus**. «Não é fácil ser-se um vírus. Não desejados e não convidados, estes pequenos micróbios são totalmente dependentes dos seus hospedeiros para sobreviverem. Apresentam-se geralmente com pouca bagagem própria, quase sempre trazendo apenas apenas uma fina capa proteica enrolada à volta de um pequeno agregado de genes. Mas se parece que estes modestos visitantes quase não merecem respeito, eles são contudo tomados muito a sério pelas doenças e misérias que podem causar.» (Balter, M. 1998).

Os vírus não são células. Mas precisam delas, pois «sem elas não são ninguém»: fora delas os vírus são metabolicamente inertes e podem ser cristalizados. Só depois de entrar na célula hospedeira usam o seu genoma para programar a replicação de novas partículas virais, ou seja o fabrico de novas cópias do vírus, tudo à custa da maquinaria bioquímica da célula! São parasitas intracelulares obrigatórios, e podem 'viajar' em vectores (nemátodos ou insectos, figura 7). Pode 'ser difícil ser-se um vírus', mas também é difícilá-lo nas suas 'tarefas'... As estratégias para os perturbar podem ser várias: basta que sejam provocadas interferências ou alterações que prejudiquem (ou não favoreçam) os vírus na sua conquista pela maquinaria bioquímica da célula! Tal como para parar ou atrasar um relógio de ponteiros - que tem uma maquinaria de pequenas peças interligadas- pode bastar perturbar uma dessas peças, também para «parar» ou «desacelerar» um vírus nas suas 'tarefas' pode bastar interferir numa das vias bioquímicas envolvidas. De facto, na obtenção de plantas transgénicas resistentes a vírus têm sido vários os alvos (por ex.: a capa proteica, a enzima replicase, as proteínas de movimento). Em Portugal e em outros países europeus (França; por ex.) foram já desenvolvidos protocolos para a obtenção de porta-enxertos de videira resistentes ao **vírus do urticado da videira** (ou do nó- curto; em inglês *grapevine fanleaf virus*).

Estão também a ser desenvolvidos protocolos para a obtenção de **plantas transgénicas resistentes a fungos e bactérias**. Vários genes codificadores de proteínas naturais com actividade anti- fúngica têm sido isolados (por exemplo: a partir de diversas plantas ou a partir de bactérias) para a sua incorporação nas plantas que se desejem transformar. A resistência (total ou parcial) a bacterioses via transformação genética de plantas recorre a genes envolvidos em processos de síntese de proteínas com actividade anti- bacteriana: crecopinas e atacinas (em inglês: *crecopins & attacins*).

As **plantas transgénicas** modificadas para adquirir tolerância a um dado herbicida (figuras 8a e 8b) permitem que o uso desse herbicida não as afecte ao mesmo tempo que ele é eficaz no combate às infestantes ou 'ervas daninhas'. Uma das vias seguidas para conseguir esta tolerância nas plantas faz uso de genes existentes em bactérias do solo que são responsáveis por essa tolerância (que se deseja ver expressa nas plantas). Um exemplo bem conhecido é o da «soja RR» soja Resistente ao RoundUp (em inglês: *RR soya de RoundUp Resistant*).



Figura 5 - Aspecto de tubos de cultura in vitro de 'neem'.

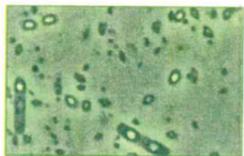


Figura 6 - Aspecto de mistura de esporos e toxinas cry de *Bacillus thuringiensis*.

**Bacillus thuringiensis Bt**- bactéria com proteínas que têm capacidade «insecticida». O seu uso comercial terá começado em França (1938) e, de modo simples, os produtos comerciais Bt contêm uma mistura de esporos secos e de cristais proteicos tóxicos da bactéria. A Direcção Geral de Protecção de Culturas. ([www.dgpc.min-agricultura.pt/fitofarmacuticos/lista/Intro\\_lista/listagem.html](http://www.dgpc.min-agricultura.pt/fitofarmacuticos/lista/Intro_lista/listagem.html)) tem indicações sobre alguns produtos 'Bt'.

**Vírus**- descobertos inicialmente por causarem alterações patológicas nalgumas células. Não são constituídos por célula(s). São apenas o resultado duma organização entre ácidos nucleicos (no seu interior: genoma de ARN ou de ADN) e proteínas (no seu exterior: a capa proteica ou invólucro proteico). Para a sua observação é necessário o uso de microscópios electrónicos.



Figura 7 - Vários insectos podem ser 'vectores' de vírus.



Figura 8a



Figura 8b

Figura 8a e 8b - Os herbicidas são usados na luta contra as Plantas infestantes, vulgarmente designadas por 'ervas daninhas'.

**Vírus do urticado da videira**- vírus que pertence aos Nepovirus, descrito pela 1ª vez em *Vitis vinifera* (videira). A sua descrição completa encontra-se na base de dados universal de vírus acessível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/18030016.htm](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/18030016.htm).

#### Fontes consultadas

- Balter, M. (1998). Viruses have many ways to be unwelcome guests. *Science* **280**: 204-5.
- Gell-Mann M. (1997). O Quark e o Jaguar. Ed. Gradiva, Lisboa.
- Hallahan, D.L., Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Wallsgrove, R.M. & Woodcock, C.M. (1992). Potencial of Secondary Metabolites in Genetic Engineering of Crops for Resistance, pp 215-248, in *Plant Genetic Manipulation for Crop Protection*, (ed. Gatehouse, A.M.R. et al.), CAB Intern.
- HEITOR, F.P.C.(1967).O *Bacillus thuringiensis*. *Rev. Dir.-Geral dos Serviços Agrícolas*, **33-36**(Jan.-Dez.): 7-12.
- Mota, M. (1986). Plantas resistentes aos herbicidas. *Vida Rural* **228**: 41-42.
- Terry, E.R.(1999). Ecological stability and crop protection: a case for investment in technological alternatives. *Plant Pathology* **48**: 679-88.
- Sankaram, A. (1999). Integrated Pest Management: Looking back and forward. *Curr. Sci.* **77**(1): 26-32.)
- Whitten, M.J., Jefferson, R.A. & Dall, D.(1996). Needs and opportunities, in *Biotechnology and integrated pest management* (ed. G.J.Persley), CAB Intern.

#### Imagens:

[www.freefoto.com](http://www.freefoto.com)  
<http://biodidac.bio.uottawa.ca>  
[www.webshots.com](http://www.webshots.com)  
[www.loats.com](http://www.loats.com)  
[www.wormatlas.org](http://www.wormatlas.org)  
<http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/bt.htm>

#### Escolas Participantes

Escola Profissional de Desenvolvimento Rural de Serpa  
 Escola Profissional do Alto Minho Interior  
 Escola Profissional Agrícola do Rodo Régua  
 Escola de Viticultura e Enologia da Bairrada Anadia  
 Escola Profissional Agrícola de Torres Vedras Runa



**ISQ** Instituto de solidaridade e qualidade

#### Conteúdo Científico

Dr.ª Maria Alexandra Viegas Abreu Lima - Departamento de Protecção de Plantas EAN-INIA

#### Concepção Gráfica

Daniela Parchow Figueiredo - Centro de Edição - ISQ