

Cancro bacteriano do kiwi - novas estratégias de mitigação para um velho problema

Por: **Marta Nunes da Silva**, investigadora no Centro de Biotecnologia e Química Fina da Universidade Católica Portuguesa

Este trabalho, realizado no âmbito de uma tese de doutoramento levada a cabo na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, conclui que a fertilização azotada à base de nitrato pode ser uma ferramenta útil para aumentar a tolerância das plantas de kiwi contra a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* (Psa) e que alguns óleos essenciais de plantas têm potencial para inclusão numa estratégia mais sustentável de gestão da doença.

O cancro bacteriano do kiwi, causado pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), é atualmente a doença mais destrutiva das plantas de kiwi (*Actinidia* spp.). A Psa é considerada um patógeno mundialmente pandémico e afeta vários países nos quais a indústria do kiwi gera importantes receitas, incluindo a China, Nova Zelândia, Itália, Chile e Portugal. No nosso país, os primeiros sintomas da doença foram reportados em 2010 num pomar de kiwi verde (*A. chinensis* var. *deliciosa*) localizado na região de Entre-Douro e Minho, o que instigou o reforço de várias ações governamentais com o objetivo de limitar a introdução e disseminação da doença no território português. Estas medidas levaram à criação de um Plano de Ação Nacional de Controlo da Psa por parte da Direção-Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV), o qual envolve diretrizes gerais de gestão da cultura para a mitigação da doença. Como resultado dos programas de prospeção promovidos pelas entidades oficiais, em 2011 a Psa foi detetada na região norte do país em plantas importadas de Itália, tendo também sido registados vários surtos bacterianos em outras regiões produtoras de kiwis relevantes localizadas mais a Centro. Devido à sua rápida disseminação e severidade a nível mundial, a Psa integra a lista de pragas recomendadas para medidas regulatórias de quarentena da Organização Europeia e Mediterrânea de Proteção Vegetal (EPPO).

A infeção da planta ocorre através de aberturas naturais (ex. abscisão de folhas) e artificiais (ex. atividades de poda), causando manchas foliares, murchidão, formação de cancras e, frequentemente, a morte da planta. Em situações de surto da doença, os produtores vêem-se obrigados a despende de milhares de euros em produtos fitossanitários, descarte de material infetado e aquisição de novas plantas para a replantação dos pomares, o que diminui a competitividade e sustentabilidade do setor do kiwi.

Observações empíricas sugerem que a bactéria geneticamente próxima *P. syringae* pv. *actinidifoliorum* (Pfm) é menos virulenta para as plantas de kiwi, não causando perdas significativas de produção, mas induzindo o aparecimento de manchas necróticas. Assim, a Psa e a Pfm devem ser adequadamente geridas para o ótimo desempenho da cultura, mas as estratégias atuais de mitigação da doença são apenas preventivas, envolvendo a remoção do material vegetal infetado e a aplicação de formulações cúpricas, as quais apresentam frequentemente eficácia limitada

ou impactos ambientais. Evidências de campo apontam ainda para uma maior suscetibilidade do kiwi verde e amarelo (*A. chinensis*) a esta doença, em comparação com o kiwi bebé (*A. arguta*), mas as razões da tolerância distinta são ainda pouco compreendidas. Estas lacunas de conhecimento limitam o desenvolvimento de novas estratégias de gestão da doença e a possibilidade de explorar os recursos genéticos das plantas para promover a sua resiliência a estes patógenos. Neste contexto, os principais objetivos desta tese de doutoramento, levada a cabo na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, foram: i) compreender os mecanismos de tolerância de diferentes espécies de plantas de kiwi contra a Psa e a Pfm; e ii) explorar novas estratégias mais sustentáveis para mitigar a doença.

Por forma a avaliar a variabilidade genotípica de diferentes espécies de plantas de kiwi à doença e comparar o grau de virulência da Psa e Pfm, plantas micropropagadas de *A. chinensis* e *A. arguta* foram artificialmente infetadas com ambos os patógenos. Após a infeção, uma maior densidade bacteriana foi observada nos tecidos foliares de *A. chinensis* (particularmente de Psa), que foi acompanhada por uma maior extensão de sintomas da doença, diminuição de clorofilas e aumento de stress oxidativo. Nesta espécie, a infeção por Psa induziu o ciclo de assimilação de amónia, provavelmente devido à utilização dos recursos metabólicos da planta por parte do patógeno. Estes resultados demonstram pela primeira vez em condições controladas que *A. arguta* é mais tolerante à infeção por Psa que *A. chinensis*, e que a Psa é mais virulenta do que a Pfm, validando assim as observações de campo que têm vindo a ser reportadas nas últimas décadas.

Para compreender as respostas das plantas de kiwi à infeção por Psa, foram realizadas análises de expressão génica direcionada (RT-qPCR), de transcriptoma total (RNA-Seq) e metabolómicas. Os resultados sugerem que a regulação de fitohormonas (particularmente dos ácidos jasmónico, salicílico e abscísico) desempenha um papel fundamental na tolerância à Psa, e que em *A. arguta* as respostas de defesa são ativadas num estágio mais precoce da doença e de forma mais eficiente do que em *A. chinensis*, através do reconhecimento mais rápido do patógeno, uma resposta antioxidante mais complexa, reforço dos tecidos com lenhina e regulação negativa da via do ácido abscísico. Em *A. arguta*, foi ainda identificada a sobre-expressão de um conjunto de 20 genes envolvidos nas principais vias de defesa das plantas, possivelmente contribuindo



para a maior tolerância desta espécie contra a Psa, que poderão apoiar programas de melhoramento de culturas.

Em *A. chinensis*, a Psa interferiu na acumulação de glutamina e ornitina e na expressão de genes envolvidos no metabolismo do azoto, e em plantas cultivadas com nitrato como fonte de azoto observou-se uma menor colonização bacteriana, melhor capacidade fotossintética e nutrição mineral (principalmente de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, zinco e manganês), comparativamente com a amónia. Os resultados sugerem que a suplementação à base de amónia pode ser desfavorável aos mecanismos de defesa de *A. chinensis* por aumentar a acumulação de azoto nos tecidos vegetais (o que favorece o crescimento da Psa) e por promover vias relacionadas com o ácido jasmónico e etileno (que afetam negativamente as defesas das plantas). A adoção de regimes de fertilização azotada à base de nitrato (evitando fertilizantes ricos em amónia) pode, por isso, ser uma ferramenta útil para aumentar a tolerância das plantas contra a Psa.

Foi ainda levada a cabo uma avaliação *in vitro* do potencial antimicrobiano de seis óleos essenciais de plantas (de anis, manjeriço, cardamomo, cominho, funcho e louro) contra a Psa e Pfm, tendo-se demonstrado que estes compostos são eficazes na inibição do crescimento bacteriano. No entanto, diferentes estirpes de Psa e Pfm apresentaram sensibilidade diferente aos diferentes óleos essenciais

testados, o que deve ser levado em consideração ao incluir estes compostos em estratégias integradas de gestão de pragas. A aplicação foliar de óleo essencial de cominho a 0.1% antes da infeção por Psa levou a uma diminuição da colonização bacteriana, o que suporta a inclusão dos óleos essenciais de plantas em estratégias mais sustentáveis de gestão da doença.

No seu conjunto, os resultados desta tese fornecem conhecimento inovador sobre as vias regulatórias desencadeadas pela infeção por Psa, e demonstram a relevância da nutrição de azoto na suscetibilidade das plantas de kiwi ao patógeno. Estes destacam ainda a potencial contribuição das fitohormonas e dos óleos essenciais de plantas para uma gestão mais eficaz e sustentável do cancro bacteriano do kiwi. Com validação de campo adequada, estas descobertas têm o potencial de apoiar a indústria do kiwi perante a ameaça da Psa, por meio de génotipos melhorados, práticas agronómicas mais eficazes e promoção da tolerância das plantas desde o viveiro até ao pomar. Tal alavancará a resiliência e rentabilidade da fileira do kiwi, apoiando, ao mesmo tempo, uma exploração mais sustentável dos ecossistemas agrícolas. ■

Nota: Esta tese de Doutoramento foi selecionada pela Associação Portuguesa de Horticultura para representar Portugal na competição “A minha tese em 3 minutos”, organizada no âmbito do 31º Congresso Internacional de Horticultura - IHC2022, a realizar de 14 a 20 de agosto de 2022, em Angers, França.