

Capítulo 1

O Melhoramento de Plantas e os Avanços Biotecnológicos

Aluizio Borém¹

Valdir Diola²

Roberto Fritsche-Neto³

Introdução

Atualmente, a população mundial é de mais de sete bilhões de pessoas e o relógio populacional do planeta continua registrando o contínuo crescimento dela (<http://www.apolo11.com/populacao.php>). Esse crescimento continuará até, aproximadamente, 2050, ano em que, segundo previsões da Organização das Nações Unidas (ONU), se estabilizará, atingindo o impressionante número de 9,1 bilhões de pessoas. Vale salientar que foram gastos alguns milhares de anos para se atingir os primeiros dois bilhões de pessoas no planeta e que outros dois bilhões serão acrescentados à Terra nos próximos 25 anos (Figura 1.1).

¹ Engenheiro Agrônomo, M.S., Ph.D. e Professor da Universidade Federal de Viçosa. E-mail: borem@ufv.br

² Engenheiro Agrônomo, M.S., D.S. e Professor da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. E-mail: valdirdiola@ufrj.br

³ Engenheiro Agrônomo, M.S., D.S. e Professor da Universidade Federal de Viçosa. E-mail: roberto.neto@ufv.br

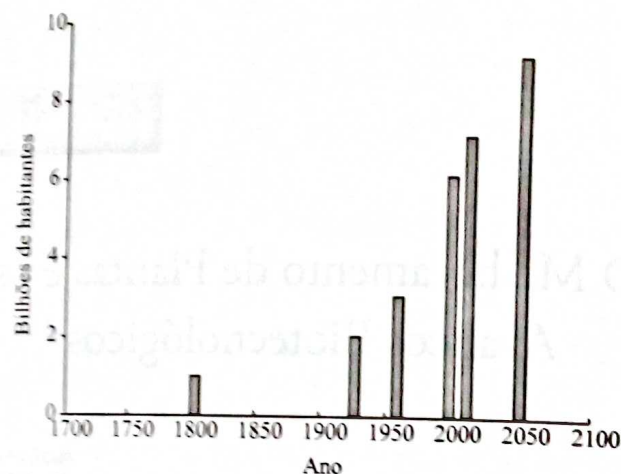


Figura 1.1. Crescimento da população mundial no decorrer dos anos.

Adicionalmente, as pessoas estão vivendo mais e migrando do meio rural para as cidades. Além disso, há o aumento do poder aquisitivo da população e a competição por área entre a produção de grãos e a de energia renovável (Beddington, 2010). Com isso, todos os sistemas atuais de produção de alimentos precisam dobrar a produtividade até 2050 (Clay, 2011), caso contrário, corre-se o risco de não se atender à crescente demanda por alimentos e as previsões de Malthus de fome generalizada, inicialmente feitas há cerca de 200 anos, de fato se concretizarem.

Nota-se que os desafios de alimentar o mundo são enormes e têm levado os cientistas a buscar métodos mais eficientes para se produzir alimentos. Nesse contexto, muitas inovações estão sendo incorporadas à produção de alimentos com vistas a suprir essa crescente demanda, a exemplo da agricultura de precisão, do uso de micronutrientes, do cultivo protegido, do manejo integrado das lavouras etc. Dentre outras inovações, os cultivares, desenvolvidos pelo melhoramento genético de plantas, têm sido considerados dos mais importantes e responsáveis por mais da metade do aumento da produtividade das lavouras ao longo do último século.

Muitas definições de melhoramento de plantas têm sido apresentadas por diferentes autores, como: i) melhoramento é a evolução conduzida pelo homem (Vavilov, 1935); ii) é a adaptação

genética das plantas a serviço do homem (Frankel, 1958); iii) é um exercício de exploração de sistemas genéticos das plantas (Williams, 1964); iv) é a ciência e arte da modificação genética das plantas para torná-las mais úteis ao homem (Allard, 1971); v) é a exploração do potencial genético das plantas (Stoskopf et al., 1993); vi) é a arte, ciência e business de alteração genética das plantas para benefício do homem (Bernardo, 2002).

Do que não se tem dúvidas é que o melhoramento de plantas é a base para que a agricultura possa disponibilizar de forma sustentável alimentos, fibras e bioenergia para a sociedade. Para a alimentação animal, o melhoramento desenvolve forrageiras e grãos, que mantêm a produção de carnes, leite, ovos etc. As atividades da agrobioenergia exigem o desenvolvimento de cultivares mais eficientes para a geração de energia via combustão, etanol e biodiesel. No futuro, o melhoramento também permitirá uma drástica mudança de paradigma da agricultura para outras produções, como fármacos, biopolímeros e químicos.

Evolução da Genética e do Melhoramento de Plantas

Desde o início da agricultura, cerca de 10.000 a.C. os povos selecionavam consciente ou inconscientemente as plantas com melhores características para o cultivo em futuras gerações. No entanto, há controvérsia sobre a partir de quando o melhoramento se tornou ciência. Alguns acreditam que isso ocorreu após as descobertas de Mendel, enquanto outros argumentam que isso tenha ocorrido antes mesmo da “era da genética”.

Uma das mais importantes contribuições para o melhoramento de plantas foi a hibridização artificial em plantas, com a intenção de reunir diferentes características vantajosas em um genótipo único. Consequentemente, alguns eventos são apontados como início desta nova ciência, por exemplo o de 25 de agosto de 1694, quando R.J. Camerarius publicou o artigo “De sex plantarum epístola”, ou, ainda, o de 1717, quando Thomas Fairchild obteve a primeira planta híbrida

na Inglaterra. Além desses eventos, em 1760, J.G. Kolreuter conduziu de fato o primeiro experimento científico sobre hibridação em plantas.

Durante o século XIX, o melhoramento de plantas já era incipiente na França, com Louis Vilmorin, que desenvolveu variedades de trigo e beterraba açucareira usando testes de progênies. Todavia, foi somente no final daquele século que o monge Gregor Mendel, trabalhando em Brno, na República Tcheca, descortinou os segredos da hereditariedade, dando início à “era da genética”, ciência fundamental ao melhoramento de plantas.

A colocação de mais algumas peças no quebra-cabeça desta nova ciência permitiu que os cientistas, na primeira metade do século XX, concluíssem que algo no interior das células era responsável pela hereditariedade. Essa hipótese originou outras, que geraram respostas e, consequentemente, novas hipóteses, de modo que os avanços e o acúmulo de conhecimento na área continuam aceleradamente. Por exemplo, a estrutura da hélice dupla do DNA foi elucidada em 1953 (Tabela 1.1). Vinte anos mais tarde, em 1973, a descoberta das enzimas de restrição abriu as portas da biologia molecular aos cientistas. A primeira planta transgênica, na qual um gene de bactéria foi inserido de forma estável no genoma vegetal, foi produzida em 1983.

Naquela ocasião, previsões futurísticas da contribuição da biotecnologia foram ensaiadas na mídia, tanto por leigos quanto pelos próprios cientistas, criando grande expectativa de suas aplicações. A euforia era a tônica no meio científico. Inúmeras empresas, de grande e pequeno porte, foram criadas, atraídas pelo entusiasmo prevalecente à época, no entanto a maioria delas saiu do mercado (Borém e Miranda, 2009). Isso se deu pelo fato de a maioria das previsões na área da biotecnologia não se concretizar dentro do cronograma inicial; e o ceticismo fez muitos desses empresários colocarem os pés no chão e os investidores realocarem seus recursos.

Atualmente, os resultados de muitas das previsões iniciais se concretizaram (Tabela 1.1), o que leva ao consenso de que a cada ano os benefícios da biotecnologia terão impacto maior nos programas de melhoramento. Com isso, novas empresas vêm se estabelecendo com as perspectivas de um mercado altamente promissor.

Tabela 1.1. Cronologia dos fatos históricos relacionados aos principais avanços da genética e da biotecnologia relevantes para o melhoramento de plantas

Ano	Marco histórico
1744 a 1829	Lamarck descreve a hipótese de transmissão hereditária dos caracteres adquiridos. Observações periódicas desconsiderando o efeito de seleção, adaptação e mortalidade induziram à conclusão errônea de que as características anatômicas mudam segundo a exigência do ambiente.
1809 – 1882	Charles Darwin elabora a teoria da seleção natural, descrita no livro “A origem das espécies”, segundo observações realizadas nas ilhas de Galápagos. Os mais bem adaptados ao meio são selecionados, sobrevivem e produzem mais descendentes.
1865	Gregor Mendel estabelece as primeiras metodologias estatísticas aplicadas ao melhoramento, dando início à “era da genética” com estudos sobre características das sementes de ervilha.
1876	Primeiro cruzamento interespecífico de trigo com centeio, originando o tritcale.
1910	Thomas Morgan, estudando efeitos da recombinação genética em <i>D. melanogaster</i> , demonstra que os fatores genéticos (genes) estão localizados nos cromossomos.
1923	Karl Sax: estudo dos QTL a partir dos caracteres de pigmentação e coloração em feijão.
1928	Griffith, pesquisando a virulência em bactérias infecciosas, verifica que a mesma linhagem poderia ser ou não virulenta na presença ou ausência dos fatores genéticos, dando início à elucidação da natureza química do DNA.
1941	George Beadle e Edward Tatum demonstram que um gene produz uma proteína.
1944	Bárbara McClintock esclarece o processo de recombinação genética estudando os cromossomos satélites e a ligação gênica relativa aos grupos de ligação 8 e 9 em milho.
1944	Avery, MacLeod e McCarty prosseguem com o experimento de Griffith e, usando nucleases e proteases, determinam que o material responsável pela hereditariedade é o DNA.
1953	James Watson e Francis Crick, usando difração de raio X, propõem a dupla hélice como estrutura da molécula do DNA.
1957	Hunter e Markert desenvolvem os marcadores bioquímicos baseados na expressão das enzimas (isoenzimas) com aplicabilidade na seleção genotípica.

Continua...

Tabela 1.1. Cont.

Ano	Marco histórico
1969	Descoberta das enzimas de restrição por Herbert Boyer, abrindo perspectivas para o <i>fingerpprint</i> do DNA e a clonagem de regiões específicas.
1972	Início da tecnologia do DNA recombinante com a primeira clonagem de um fragmento de DNA.
1973	Stanley Cohen e Herbert Boyer fazem a primeira experiência de Engenharia Genética aplicada a um microrganismo, a bactéria <i>Escherichia coli</i> . Esse foi considerado o primeiro organismo geneticamente modificado (OGM).
1977	Maxam e Gilbert desenvolvem o sequenciamento do DNA por degradação química.
1980	Botstein et al. desenvolvem a técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) para a seleção genotípica de amplo uso.
1975	Sanger desenvolve o sequenciamento pelo método enzimático; em 1984, o método é aperfeiçoado e os primeiros sequenciadores automáticos são construídos na década de 80.
1983	Surge a primeira planta transgênica: uma variedade de tabaco na qual um grupo de cientistas belgas introduziu genes de resistência ao antibiótico canamicina.
1985	A Genentech torna-se a primeira empresa de biotecnologia a lançar o seu próprio produto biofarmacêutico, a insulina humana produzida a partir de cultura de <i>E. coli</i> transformada com gene humano funcional.
1985	Produção da primeira planta com gene de resistência a lepidópteros.
1986	Primeiro campo experimental de plantas transgênicas, em Gant, na Bélgica.
1987	Surge a primeira planta tolerante a um herbicida, o glifosato.
1987	Mullis e Faloona identificam a enzima Taq DNA Polimerase termoestável, o que permitiu a automatização da PCR.
1988	Surge o primeiro cereal transgênico: o milho Bt.
1990	Rafalski et al. (1990) desenvolvem a primeira técnica para genotipagem usando PCR; o RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA).
1990	Criação de novas ferramentas de alinhamento de sequências do NCBI (BLAST – Basic Local Alignment Search Tool) (National Centre of Biotechnology and Information – www.ncbi.gov).

Continua...

Tabela 1.1. Cont.

Ano	Marco histórico
1994	Pela primeira vez, ocorre uma autorização de plantio comercial e consumo de um OGM no mundo, o tomate Flavr Savr.
1997	Primeira planta com gene humano: o tabaco produtor de proteína c humana.
2000	A área total plantada com plantas transgênicas no mundo inteiro é de 44,2 milhões de hectares. Estados Unidos, Argentina, Canadá, Austrália, África do Sul, Romênia, Bulgária, França, Espanha, Uruguai e Ucrânia são produtores de OGMs.
2000	Primeiro sequenciamento completo de um organismo procarioto, a bactéria <i>E. coli</i> .
2003	Divulgada a sequência do primeiro genoma eucarioto, o humano, por dois grandes grupos independentes de pesquisas nos EUA.
2004	Dezoito países utilizam variedades GM, totalizando 67,7 milhões de hectares.
2005 a 2009	Utilização do sequenciamento em larga escala (NGS – Next Generation Sequencing) como ferramenta para desvendar os genomas inteiros em curto espaço de tempo.
2006 a 2011	Desenvolvimento de plantas GM de segunda e terceira geração, com características específicas em espécies consolidadas.
2010	A área plantada com transgênicos no mundo ultrapassa 180 milhões de ha e o Brasil é o segundo maior produtor de culturas geneticamente modificadas.
2011	Geração de sequenciadores em larga escala da segunda e terceira geração: genomas de eucariotos passam a ser sequenciados em apenas algumas horas.
2012	Uso das tecnologias que controlam a expressão temporal e espacial dos genes usados na transformação genética e exclusão dos genes auxiliares.
2013 ...	Amplio uso de sequenciamento em larga escala, macro e microsintetia, mapeamento associativo, marcadores moleculares para seleção genômica ampla, clonagem de QTL, fenotipagem em larga escala, ampliação do uso das "ômicas", OGMs específicos e múltiplos atributos fenotípicos, intenso uso da bioinformática.

Os Impactos dos Avanços durante o Século XX

O século XX foi marcado por grandes descobertas ou desenvolvimentos que tiveram profundo impacto na maneira de se fazer melhoramento de plantas. Inicialmente, foi a redescoberta das leis de Mendel, em 1900. Em 1909, Shull escreveu os primeiros trabalhos sobre exploração da heterose em milho. A década de 20 foi marcada pelo desenvolvimento dos métodos clássicos de melhoramento. Na década de 30, a euforia foi em função da descoberta da mutagênese e da utilização dos métodos estatísticos. Na década seguinte, ocorreram os grandes avanços na genética quantitativa. E na década de 50, na fisiologia; na de 60 na bioquímica; na de 70, na cultura de tecidos; na de 80 na biologia molecular (Borém e Miranda, 2009); e na de 90, na transformação genética.

Nessa linha do tempo, com base na experiência acumulada em 45 anos de intenso e efetivo melhoramento de plantas na iniciativa privada e em universidade, Donald Duvick (1986) relata que os maiores avanços que presenciou foram: a adoção da mecanização na experimentação e o uso de computadores nos programas de melhoramento; a prática de duas ou mais gerações ao ano, diminuindo o tempo para a obtenção de novos cultivares; e o aumento na rapidez da comunicação entre melhoristas ao redor do mundo, que transformaram o modo de fazer melhoramento. Fundamentado em conhecimentos científicos, o melhoramento tem permitido produções agrícolas que atendam à demanda mundial de alimentos (Wolf, 1986).

A Revolução Verde certamente foi um dos exemplos do impacto econômico e social que o melhoramento de plantas pode ter no mundo. Nesse caso, a introdução de genes de nanismo em trigo e, mais adiante, em outros cereais, como arroz, possibilitou incremento significativo na adaptação e produtividade dessas espécies. Também possibilitou maior uso de fertilizantes nitrogenados, gerando o emprego de pacotes tecnológicos, mesmo em países de terceiro mundo, com aumento significativo na produção mundial de alimentos (Borlaug, 1968; Borlaug, 1969).

Para alcançar seus objetivos, os melhoristas têm contado com o auxílio de algumas ferramentas valiosas. Dois dos principais fatores da evolução, a recombinação e a seleção, têm sido intensivamente utilizados pelos melhoristas com o emprego de métodos refinados desenvolvidos na primeira metade do século XX. Já nos últimos anos, surgiu nova e altamente promissora ferramenta da biologia molecular.

A maioria dos melhoristas acreditava que as principais aplicações dos marcadores moleculares seriam: introgressão de fatores monogênicos, melhoramento assistido por marcadores, transferência de QTL e de transgenes e seleção de genitores (Lee, 1995). Segundo Lee (1995), as principais limitações para a utilização dos marcadores moleculares no desenvolvimento de cultivares seriam: a fenotipagem adequada e, em larga escala, o custo da tecnologia, a interação genótipo x marcador e a dificuldade operacional.

Na virada do século XX, as pesquisas em genética nas universidades ao redor mundo foram direcionadas predominantemente para a biologia molecular e a transformação genética de plantas. Isso foi devido ao elevado grau de especificidade nas linhas de pesquisa em genética e às dificuldades no melhoramento para determinados caracteres por meio de hibridação ou, ainda, por inexistência de recursos genéticos. Outro motivo para o uso da transformação genética é em relação ao estudo da expressão de genes de interesse comercial. Como consequência, é possível observar que tem aumentado rapidamente o número de universidades que alocam recursos humanos e econômicos nesta área. Assim, a biotecnologia é considerada uma valiosa ferramenta nos programas de melhoramento e é cada vez mais usada, de modo que biotecnólogos e melhoristas se entendem mais facilmente do que nos primórdios da biotecnologia.

Avanços e Benefícios Esperados da Biotecnologia

Com base nos fatos apresentados no início deste capítulo, especula-se que haja a necessidade de uma nova Revolução Verde para aumentar a produção de alimentos no mundo e suprir a futura demanda. Logo surge a pergunta: será que a biotecnologia poderá

levar o melhoramento de plantas a uma nova Revolução Verde? Acredita-se que já existem evidências dessa possibilidade.

Uma das evidências disso é que o número de cultivares transgênicos lançados comercialmente nos últimos anos vem aumentando de forma substancial. Cultivares tolerantes a herbicidas são predominantes para a maioria das espécies commodities, seguidos daqueles com resistência a insetos, entre outros. As contribuições da biotecnologia para a agricultura já se fazem sentir em vários países onde cultivares transgênicos vêm ocupando grandes áreas de plantio com diferentes espécies, como é o caso dos EUA, Brasil, Argentina, Canadá e vários outros. Eventualmente, o melhoramento poderá atingir platôs de rendimento com as restrições impostas pela piramidação (Milach e Cruz, 1997) de genes disponibilizados pela biotecnologia ou existentes no germoplasma, resultando no que é denominado arresto gênico. Entretanto, a biotecnologia criará perspectivas ainda não imaginadas pelo melhorista, o que possibilitará superar os limites atuais. As plantas transgênicas serão apenas parte da contribuição que a biotecnologia promete dar ao melhoramento de plantas.

Para que isso seja alcançado, Tanksley e Mccouch (1997) realçaram a importância do uso dos recursos genéticos existentes em bancos de germoplasma e presentes, muitas vezes, em espécies silvestres. Existe a possibilidade de se acessar a variabilidade genética no DNA com o uso de marcadores moleculares, e isso irá revolucionar a forma como essa variabilidade será explorada em programas de melhoramento no futuro.

Ferramentas do Melhoramento no Terceiro Milênio

Os recentes avanços da genômica permitiram que objetivos antes inatingíveis, como o de sequenciar e desvendar a informação genética contida no genoma de um organismo, pudessem ser alcançados em período relativamente curto. Dentre essas tecnologias, destacam-se: os avanços nas técnicas de culturas de tecidos, a obtenção de marcadores moleculares cobrindo todo o genoma e

ligados a características desejáveis, a construção de mapas genéticos para todos os cromossomos de um organismo, o desenvolvimento e a automação de métodos de sequenciamento de DNA genômico e de cDNA em larga escala, a transformação genética e o aperfeiçoamento de algoritmos para análise de grandes quantidades de dados (bioinformática).

Cultura de Tecidos

A partir das observações de regeneração dos tecidos vegetais lesados, foi reconhecida neste reino a totipotência, habilidade de regeneração de um órgão ou tecido a partir de uma célula. O reconhecimento desse princípio biológico é creditado ao fisiologista vegetal alemão Haberlandt, que, em 1902, enunciou que cada célula vegetal possuía potencial genético para reproduzir um organismo completo. Esse fisiologista elaborou previsões de que tecidos, células e órgãos poderiam ser mantidos indefinidamente em cultura. A cultura de tecidos, portanto, refere-se ao desenvolvimento de tecidos e, ou, células em sistemas *in vitro*, isto é, separados do organismo de origem do material, em meio de cultura contendo carboidratos, vitaminas, hormônios, sais minerais e outros nutrientes essenciais ao crescimento dos tecidos cultivados.

A cultura de tecidos vegetais é uma importante técnica que vem sendo utilizada no melhoramento genético convencional para: ampliar a variabilidade genética, por meio da variação somaclonal; reduzir o tempo para o desenvolvimento de novos cultivares, via cultura de anteras (Figura 1.2); introduzir genes de interesse agrônomo, via resgate de embriões; limpeza viral ou indexação, por meio da cultura de meristema etc. Essa técnica vem também sendo amplamente utilizada como ferramenta biotecnológica essencial para a obtenção de variedades geneticamente modificadas, via regeneração de plantas completas a partir de células transformadas. A transformação genética por si ainda permite aumento no número de genes disponíveis no conjunto gênico das espécies. Adicionalmente, a cultura de tecidos é uma prática adotada na conservação de recursos genéticos em vários programas de melhoramento.

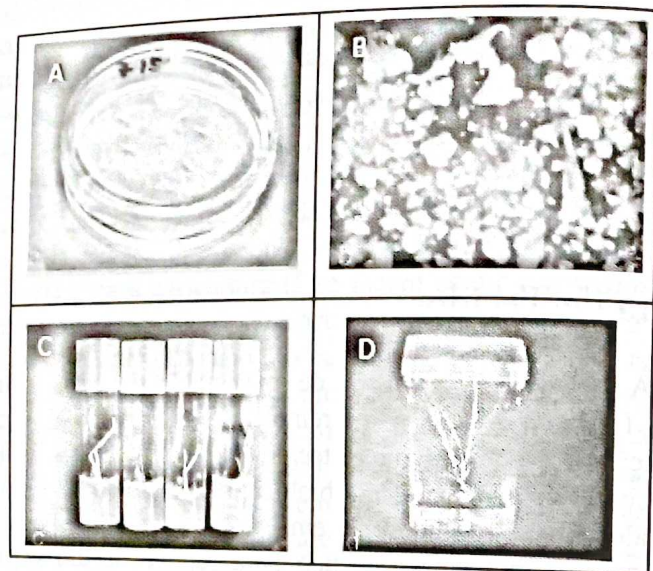


Figura 1.2. Embriogênese somática em cevada: (A) anteras no meio nutritivo, (B) embrioides, (C) plântulas e (D) planta completamente regenerada.

Outra aplicabilidade da cultura de tecidos é a produção de linhagens homozigóticas por meio de di-haploides, o que pode reduzir o tempo no desenvolvimento de novos cultivares. Essa técnica, apesar de não ser recente, ainda precisa ser otimizada para se tornar mais eficaz. Entretanto, ela já é utilizada comercialmente em diversas espécies agrônômicas, como trigo, cevada e milho.

Engenharia Genética

Plantas geneticamente modificadas, ou transgênicas, como são popularmente conhecidas, são aquelas cujo genoma foi alterado pela introdução de DNA exógeno por meio diferentes métodos de transformação. Esse DNA pode ser derivado de outros indivíduos da mesma espécie ou de outra espécie completamente diferente, podendo ser inclusive artificial, isto é, sintetizado em laboratório. O termo organismo geneticamente modificado (OGM) é também frequentemente utilizado para indicar de maneira genérica qualquer indivíduo

que tenha sido manipulado geneticamente, utilizando-se as técnicas do DNA recombinante.

O maior gargalo na obtenção de plantas transgênicas era a disponibilidade de genes clonados. Sua análise estrutural e funcional, assim como a identificação de genes, foi adequada e seu estudo tronou-se muito mais rápido em bactérias e vírus do que em plantas superiores. Em consequência, a transferência de genes virais ou bacterianos em plantas superiores foi destaque no início das atividades de transferência gênica.

O primeiro produto transgênico comercializado no mundo foi o tomate Flavr-Savr, lançado em 1996 nos EUA (Tabela 1.1) e desenvolvido por técnicas do DNA recombinante pela Calgene Co. para retardar o seu amadurecimento pós-colheita. Hoje, vários outros produtos já estão no mercado, como o cultivar de algodão 'Ingard', lançado em 1996. 'Ingard' é portador do gene Bt da bactéria *Bacillus thuringiensis*, que confere resistência às lagartas. A soja 'Roundup Ready', tolerante ao herbicida glifosato, híbridos de milho portadores do gene Bt, cultivares de tomate resistentes a insetos e tolerantes a herbicidas são os exemplos mais bem-sucedidos da transgenia. Outros exemplos são cultivares de feijão e clones de batata resistentes a vírus e cultivares de canola com melhor qualidade de óleo (Kubicek, 1997).

Na maioria dos casos, durante esse período, as características de interesse para o agricultor foram enfatizadas, e ainda o são, pois as pesquisas do início deste milênio concentraram-se na análise funcional de genes de plantas superiores, permitindo a alteração de suas características e da produção. A expectativa é que, com o passar dos anos, os cultivares transgênicos apresentem eventos cada vez mais complexos e de maior valor agregado e com finalidades desde a agricultura até o ramo farmacêutico, (Figura 1.3). Isto mudará o paradigma da agricultura de fonte de alimentos, fibras e energia para fonte de químicos e fármacos.

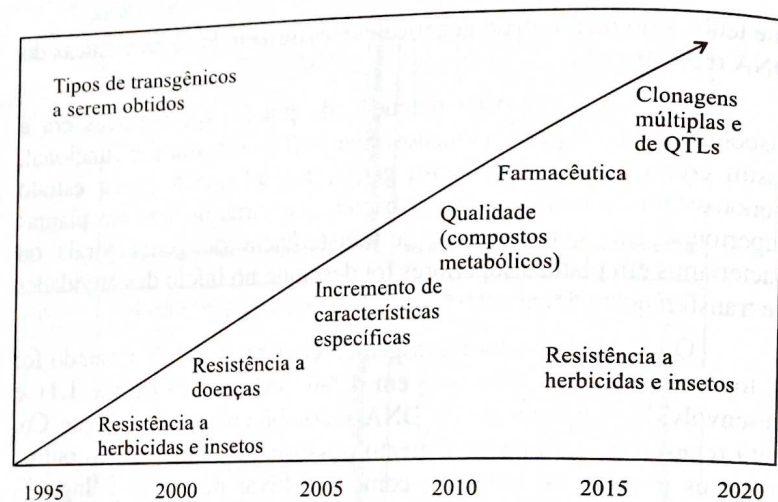


Figura 1.3. Expectativa de lançamento de novos cultivares transgênicos. Adaptado de Wenzel (2006).

Marcadores moleculares e mapas genéticos

O uso de marcadores moleculares, isto é, de polimorfismo de sequência de DNA, como referência ao longo dos cromossomos, tem sido a tecnologia básica para a construção de mapas genéticos de várias espécies (Borém e Caixeta, 2009). Na verdade, com exceção de alguns poucos organismos-modelo, a grande maioria das espécies não possuía, até o final dos anos 80, qualquer informação de mapa genético. Nesse sentido, houve grande revolução e massificação da informação genética relativa à determinação de grupos de ligação no genoma de vários organismos em curto período de tempo. Deve-se observar que vários ramos da genética, alguns deles carentes em dados experimentais em escala, como a genética de populações, foram também beneficiados com a grande quantidade de dados gerados pelo emprego de marcadores moleculares.

Os primeiros mapas genéticos de plantas baseados em marcadores de DNA foram construídos entre 1986 e 1988 para milho, tomate e arroz (Bernatzky e Tanksley, 1986; Helentjariset al., 1986). Desde então, mapas genéticos têm sido construídos para um grande

número de espécies vegetais. Em geral, a informação de mapa tem sido a base para “o caminhar” no cromossomo em direção aos genes de interesse (chromosome walking) ou “atterrissar” no gene (chromosome landing) (Tanksley et al., 1995).

Alguns locos que controlam características qualitativas foram mapeados ainda no início da década de 90, a exemplo o loco Pto em tomate, que confere resistência a *Pseudomonas syringae* pv. tomato. Exemplos similares têm sido observados em outras espécies vegetais, como arroz, em que o gene sd1 (que codifica uma enzima da via metabólica de giberelinas, um hormônio vegetal de crescimento) confere à planta fenótipo “semianão”. Esse gene foi utilizado no desenvolvimento dos cultivares modernos de arroz, de porte mais baixo, que melhor respondem ao uso de fertilizantes nitrogenados, sem acamar. Dessa forma, a planta produz mais grãos quando adubada e permite a colheita mecanizada, aumentando-se a produtividade. Prova disso é que o cultivar “semianão” de arroz IR-8, desenvolvido na década de 60, ficou conhecido como “arroz do milagre”, por ter impedido uma enorme crise por falta de alimentos prevista naquela época, principalmente nos países asiáticos. A produtividade de IR-8, obtida com a introdução desse gene sd1, resultou em produtividades duas a três vezes superiores às de outras variedades comuns antes da Revolução Verde.

Dentre os diversos tipos de marcadores moleculares, destacam-se os RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats) e os SNP (Single Nucleotide Polymorphism), além dos marcadores derivados, SCAR (Sequenced Characterized Amplified Region) e CAPS (Characterized Amplified Polymorphism Sequenced). A descoberta de que repetições de sequência simples também ocorrem em EST (Expressed Sequence Tag) trouxe a oportunidade de produzir marcadores microssatélites de forma simples e direta, ou seja, pela busca eletrônica em bases de dados de EST. Por exemplo, Scott et al. (2000), usando essa metodologia, geraram 10 marcadores SSR derivados de uma base de dados de EST em uva, contendo 5.000 EST.

Genômica

O estudo da genômica propriamente dita iniciou-se com o sequenciamento do material genético dos organismos. No seu curto período de existência, a genômica avançou profundamente com a robotização e análise da expressão gênica em larga escala. Algumas das aplicações genômicas nos programas de melhoramento incluem: diagnose molecular, como testes de transgenia, confirmação de alelos-alvo em populações de melhoramento, testes de *background* genético, identificação genômica, testes de identidade genética para proteção de cultivares, controle de pureza varietal, organização da variabilidade genética de coleções de germoplasma e seleção assistida por marcadores moleculares. A tecnologia propicia estudos filogenéticos, de sintenia gênica, desenvolvimento de marcadores moleculares, mapeamento físico, anotação de sequência etc. Ressalta-se que todo o conhecimento produzido pela genômica necessita ser armazenado em bancos de dados, alguns de domínio público, outros restritos, assim como de domínio privado. Atualmente, o maior banco de dados público de acesso livre é o NCBI (National Center for Biotechnology Information).

O melhoramento genômico visa integrar as metodologias e técnicas empregadas no melhoramento genético convencional com as tecnologias e estratégias de biologia molecular. Isso inclui, por exemplo, o emprego de informação genética derivada de mapas de ligação construídos com marcadores moleculares em programas de retrocruzamento. Inclui, também, a piramidação de genes de resistência a diferentes doenças por meio de seleção assistida por marcadores ou, ainda, o emprego de índice de seleção na definição dos indivíduos a serem recombinados em programas de seleção recorrente, com base em informação fenotípica obtida no campo e de informação de DNA obtida em laboratório (Lande e Thompson, 1990). O uso de marcadores moleculares, portanto, assume papel importante no melhoramento genômico, especialmente para uma coleta de dados acurada, de custo compatível e de rápido diagnóstico para uso na escala exigida nos programas de melhoramento.

Outras “Ômicas”

Além da genômica, outras novas ciências também estão sendo desenvolvidas e terão grande aplicabilidade no melhoramento de plantas. As técnicas de transcriptoma são promissoras, pois geram maior conjunto de informações do material genético funcional. Na literatura, encontram-se muitas técnicas aplicadas no estudo da expressão gênica em plantas, destacando-se as baseadas na síntese do DNA complementar (cDNA) a partir da fita de mRNA: Northernblot, cDNA-AFLP, PCR em tempo real, hibridação subtrativa, bibliotecas full-length, diferencial display, expressão diferencial, dentre várias outras. As técnicas mais poderosas aplicadas ao estudo da expressão gênica são baseadas em transcriptoma. Atualmente o RNAseq é uma das mais importantes, pois gera grande quantidade de informação em um curto espaço de tempo e por custo relativamente baixo.

As técnicas de proteômica permitiram identificar diversas proteínas, bem como estudar os processos de interação proteína-proteína, proteína-DNA, proteína-RNA e proteína-metabólico. Esses estudos de regulação pós-transcricional e, ou, pós-traducional têm despertado grande interesse na biologia molecular, tornando-se ferramenta de aplicação imediata.

Com a metabolômica, abriu-se nova perspectiva para compostos anteriormente considerados resíduos, possíveis de serem melhorados pela biotecnologia e aproveitados. Em breve, as plantas geneticamente modificadas poderão se transformar em biofábricas.

O Melhoramento Clássico Associado à Biotecnologia

O melhoramento de plantas requer persistência, pois normalmente são necessários de oito a 12 anos para se obter um novo cultivar, em razão dos processos que envolvem desde o cruzamento aos testes de valor de cultivo e uso (VCU). As ferramentas da biotecnologia permitem, pelo menos, a redução do período de seleção, uma vez que esta é realizada a partir da genotipagem, diferente do melhoramento clássico, que carece de fenotipagem em todas as

gerações. Na Figura 1.4, encontram-se descritas as formas de integração do melhoramento clássico com as ferramentas da biotecnologia. Mesmo usando as novas ferramentas, é preciso, inicialmente, adequar as técnicas de genotipagem coerentemente com a fenotipagem, etapa relativamente laboriosa e de custo relativamente elevado. Vale salientar que a biotecnologia não substitui os métodos de melhoramento clássico. O interessante é a associação de ambos, visando aumentar a acurácia seletiva e diminuir o intervalo entre gerações de seleção.

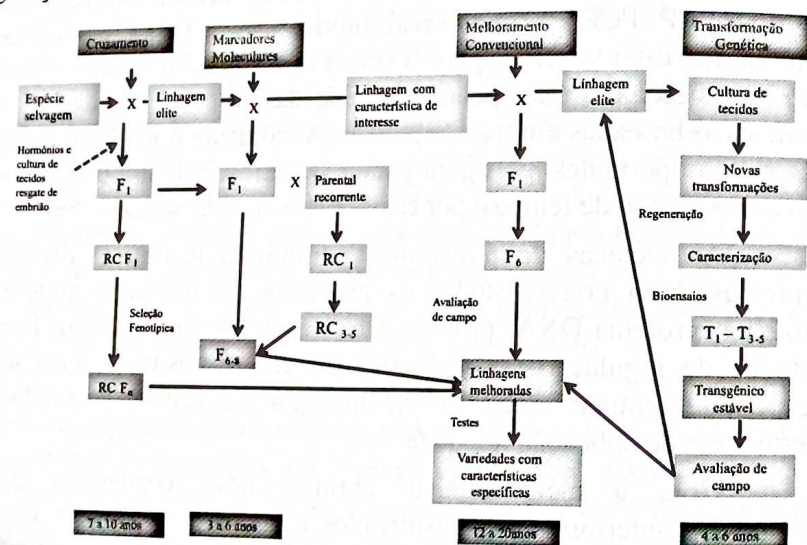


Figura 1.4. Esquema do melhoramento combinando as técnicas clássicas com a biotecnologia. Linhagens derivadas de transformação genética podem ser usadas como genitores doadores em programas de cruzamentos no melhoramento convencional. As linhagens devem passar por seleção e obtenção de indivíduos homozigotos, visando à estabilidade genética, e isso pode ser mais facilmente conseguido mediante o uso de marcadores moleculares que abrevia o período necessário para se obterem novos cultivares. Adaptado de Sharma et al. (2003).

A maioria das plantas contém 20.000 a 60.000 genes (Arabidopsis – 25.000, arroz – 46.000; <http://www.eugenes.org>) e a

recombinação e, ou, combinação de enorme quantidade de alelos por meio de cruzamento é hoje, e será no futuro, o processo central para o desenvolvimento de novos cultivares (Sharma et al., 2002). Naturalmente, a inclusão de novas combinações em genótipos de alto desempenho produtivo por meio das tecnologias modernas é um modo de baratear os custos da obtenção de novos cultivares, uma vez que os genótipos utilizados apresentam as características desejáveis e estabilidade genética. Aumentar o conhecimento em âmbito molecular sobre o controle genético e a herança de caracteres de interesse auxiliará na escolha de genitores ou, ainda, permitirá a seleção mais eficiente de novas combinações genotípicas (Rommens e Kishore 2000). Deve-se ressaltar que, embora haja uma gama de novas tecnologias, o progresso genético, documentado pelo registro anual de novos cultivares em todo o mundo, é o resultado, principalmente, do melhoramento clássico, e isso deve predominar por longo período, podendo, gradualmente, ser substituído por um método integrado com a biotecnologia. Prova disso é a extensa a lista de cultivares lançados que fizeram o uso da biotecnologia. Hoje, o principal método biotecnológico utilizado é o DNA recombinante que gera as variedades transgênicas. Entretanto, são várias as metodologias que podem ser integradas ao melhoramento de plantas (Tabela 1.2).

Tabela 1.2. Aplicação da biotecnologia para melhorar a produtividade e qualidade das principais culturas

Cultura	Áreas do melhoramento	CT/H	MAS	Transg
Arroz	Tolerância à seca e salinidade		X	X
	Resistência a doenças	X	X	X
	Características nutricionais e qualidade no grão		X	X
Trigo	Resistência ao alagamento		X	
	Produtividade, qualidade e adaptação		X	X
	Resistência a fungos e doenças		X	X
Milho	Resistência ao encharcamento	X	X	X
	Produtividade	X	X	X
	Salinidade e elementos tóxicos	X		X
	Qualidades no grão		X	X

Continua...

Tabela 1.2. Cont.

Cultura	Áreas do melhoramento	CT/H	MAS	Transg
Sorgo	Produtividade e qualidade	X	X	X
	Resistência a doenças		X	X
	Salinidade e tolerância à seca	X	X	X
Soja	Resistência a doenças e tolerância a insetos		X	X
	Resistência a herbicidas			X
	Produtividade e qualidade de óleo		X	X
	Qualidades nutricionais e outros compostos		X	X
Algodão	Produtividade e qualidade de fibras		X	X
	Resistência a doenças e tolerância a insetos		X	X
	Tolerância a estresse abiótico (seca, salinidade...)	X	X	X
Eucaliptos	Qualidade de fibras		X	X
	Produtividade	X	X	X
	Óleos essenciais	X	X	X
Cana-de-açúcar	Produtividade	X	X	X
	Qualidade de fibras		X	X
	Compostos secundários	X	X	X
	Tolerância a insetos, doenças e herbicidas		X	X
Hortaliças	Tolerância a estresse abiótico (seca, salinidade ...)	X	X	X
	Qualidades nutricionais	X	X	X
	Compostos farmacológicos			X
	Tolerância a insetos, doenças (fungos e vírus)		X	X
	Tolerância a estresse abiótico (seca, salinidade ...)	X	X	X
	Adaptação e produtividade	X	X	X

CT/H – cultura de tecidos seguida de hibridação; MAS – Seleção Assistida por Marcadores Moleculares; e Transg – Transgenia.

Perspectivas

O melhoramento de plantas é uma arte, ciência e negócio de pouco mais de um século. Com ele, os melhoristas têm desenvolvido cultivares agronomicamente superiores, utilizando métodos desenvolvidos principalmente no século passado. Uma vez que os desafios para a agricultura produzir alimentos são cada vez maiores, o melhoramento de plantas precisa evoluir e utilizar os novos conhecimentos. Desse modo, a biotecnologia continuará a ser gradativamente incorporada à rotina dos programas de melhoramento, tornando-os mais precisos, rápidos e eficientes. Embora os desafios sejam grandes, as perspectivas são ainda maiores.

Referências

- Allard, R.W. 1971. Princípios do melhoramento genético das plantas. Traduzido por: Blumenscheub, A.; Paterniani, E.; Gurgel, J.T.A.; Vencovski, R. São Paulo: Edgard Blücher Ltda. 381p.
- Beddington, I. 2010. Food security: Contributions from science to a new and greener revolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 365: 61-71.
- Bernardo, R. 2002. Breeding for quantitative traits. Minneapolis: Stemma Press. 400p.
- Bernatzky, R.; Tanksley, S.D. 1986. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112:887-898.
- Borém, A.; Caixeta, E. T. 2009. Marcadores moleculares. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema. 532p.
- Borém, A. e Miranda, G.V. 2009. Melhoramento de plantas. 5. ed. Viçosa: Editora UFV. 529 p.
- Borlaug, N. E. 1969. A Green Revolution yields a golden harvest. *Columbia J. World Bus.* 4:9-19.
- Borlaug, N. E. 1968. Wheat breeding and its impact on world food supply. Public lecture at the Third International Wheat Genetics Symposium, Australian Academy of Science, p. 5-9.
- Clay, J. 2011. Freeze the footprint of food. *Nature* 475: 287-289.
- Duvick, D.N. 1986. Plant breeding: past achievements and expectations for the future. *Econ. Bot.* 40: 289-297.
- Frankel, O.H. 1958. The dynamics of plant breeding. *Journal of Australian Institute of Agriculture Science* 24: 112.