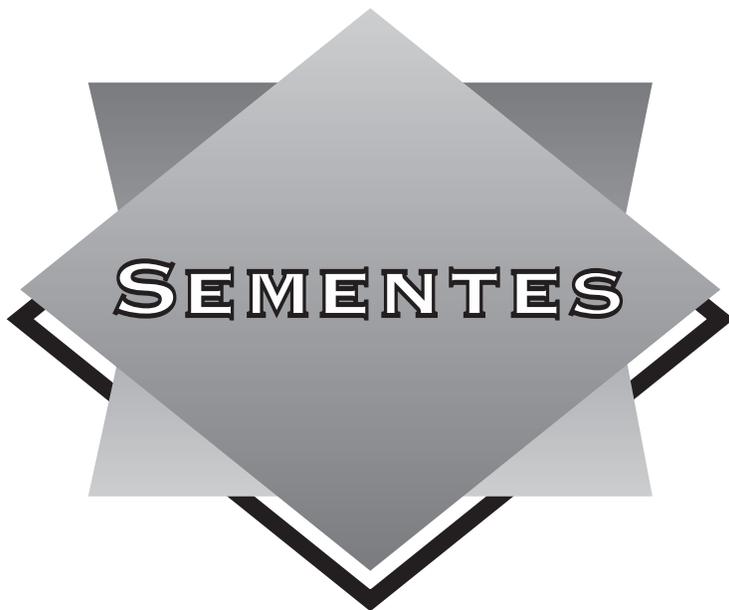


*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura e Pecuária*



O produtor pergunta, a Embrapa responde

*Antonieta Nassif Salomão
Izulmé Rita Imaculada Santos
Marcos Aparecido Gimenes
Denise Garcia de Santana
Taciana Barbosa Cavalcanti*

Editores Técnicos

Embrapa
*Brasília, DF
2023*

7

Biotecnologia



*Diva Maria de Alencar Dusi
Júlio Carlyle Macedo Rodrigues
Vera Tavares de Campos Carneiro*

348

Como a biotecnologia vegetal pode contribuir para a agricultura?

A biotecnologia, integrada ao melhoramento genético, contribui para a produção de sementes e plantas de melhor qualidade, com maior resistência a pragas e tolerância a estresses bióticos e abióticos, entre outros. Para isso, são utilizadas técnicas como cultura in vitro, resgate de embriões, duplicação do número de cromossomos, mutagênese, transgenia, biologia sintética, marcadores moleculares.

349

Quais são as contribuições da biotecnologia ao sistema de produção de sementes?

A biotecnologia fornece meios para identificar variedades e pureza das sementes, para detectar precocemente doenças com métodos moleculares, bioquímicos e celulares. Os métodos celulares, como cultura de tecidos, também são empregados no auxílio ao controle e erradicação de doenças transmitidas via sementes. Além disso, podem ser utilizados como agentes de controle biológico, na técnica de microbiolização de sementes, alguns microrganismos como *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. e fungos que protegem as sementes e as plântulas de várias pragas (patógenos, insetos, ácaros e nematoides). Ademais, a biotecnologia contribui com a oferta de sementes com características melhoradas via transgenia e biologia sintética (ver Perguntas e Respostas nº 364 a nº 368).

350

Quais são os métodos utilizados na detecção de doenças transmitidas por sementes?

Os métodos vão desde o exame visual das sementes ou plântulas germinadas in vivo ou in vitro até as técnicas sorológicas ou moleculares. Esses métodos devem ser rápidos e simples de implementar, robustos, sensíveis e de custo reduzido e, principalmente, devem ser específicos para os patógenos.

Os métodos mais utilizados são a detecção feita por germinação de sementes e por testes moleculares, realizados em amostras de sementes ou plântulas, que são mais sensíveis. Entretanto, as técnicas moleculares só estão disponíveis para um número limitado de pragas, geralmente as mais importantes. Como exemplo de métodos baseados na reação antígeno-anticorpo, há o diagnóstico feito pelo método ELISA (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*), que detecta a presença de proteínas específicas numa amostra, e aqueles baseados em reação em cadeia da polimerase (do inglês, *polymerase chain reaction enzyme-linked* – PCR), que detecta fragmentos específicos de ácidos nucleicos, DNA ou RNA.

351

Como são os métodos de germinação in vitro para detecção de patógenos?

Nestes métodos, a semente, após desinfecção superficial, é inoculada em um meio de cultivo in vitro para que germine. Os patógenos existentes podem crescer nesse meio de cultivo. Assim, o patógeno pode ser isolado e identificado de acordo com suas características morfológicas e bioquímicas ou de crescimento em cultura. Esse método tem limitações, como:

- Algumas bactérias e fungos parasitas podem não crescer em meio de cultura e, portanto, não serem detectados.
- A presença de possíveis contaminantes de sementes, como os organismos saprófitas (que não são patógenos e crescem bem no meio de cultivo), interfere na análise dos patógenos. Para inibir ou retardar o crescimento dos organismos saprófitas, favorecendo o crescimento do patógeno, são utilizados meios de cultivo seletivos, que contêm antibióticos, fungicidas, fontes de carbono e nitrogênio.

352

Como é realizada a detecção de patógenos por ELISA?

O ELISA é um teste sorológico que não necessita do isolamento do patógeno. Nesse teste, a amostra com o patógeno é detectada por

um complexo antígeno-anticorpo que contém um anticorpo com um marcador enzimático. Estando o antígeno presente, o anticorpo marcado se associa ao complexo e, na presença do substrato, produz uma reação enzimática que resulta em uma coloração distinta. A coloração depende do tipo de marcador do conjugado. Como suporte, podem ser utilizadas placas ou membranas. Esse teste é muito utilizado para detectar vírus, bactérias e fungos de plantas e depende da disponibilidade de anticorpos para o patógeno em questão. Ele é rotineiramente usado na detecção de vírus em sementes (Figura 9).

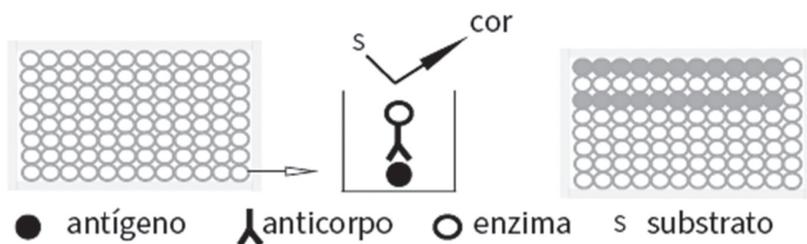


Figura 9. Representação esquemática do teste direto de ELISA feito em placas com 98 poços.

353

Como é realizada a detecção de patógenos por reação em cadeia da polimerase?

A reação em cadeia da polimerase (PCR) se baseia na amplificação de ácidos nucleicos com a utilização de iniciadores específicos para o pareamento com sequências de DNA ou RNA específicas do patógeno, e enzimas que permitem a extensão das cadeias das sequências. Se o patógeno estiver na amostra, ocorrerá a polimerização, e o fragmento de ácido nucleico poderá ser detectado. É um teste rápido, bastante específico e sensível (Figura 10). Entretanto, a presença de compostos fenólicos, taninos e outros na amostra pode inibir a reação de PCR, tornando necessária a extração de ácidos nucleicos, o que aumenta a complexidade

e a duração do teste. Baseadas em PCR, outras técnicas foram desenvolvidas para a detecção de patógenos: BIO-PCR, IMS-PCR, MCH-PCR, Real time PCR.

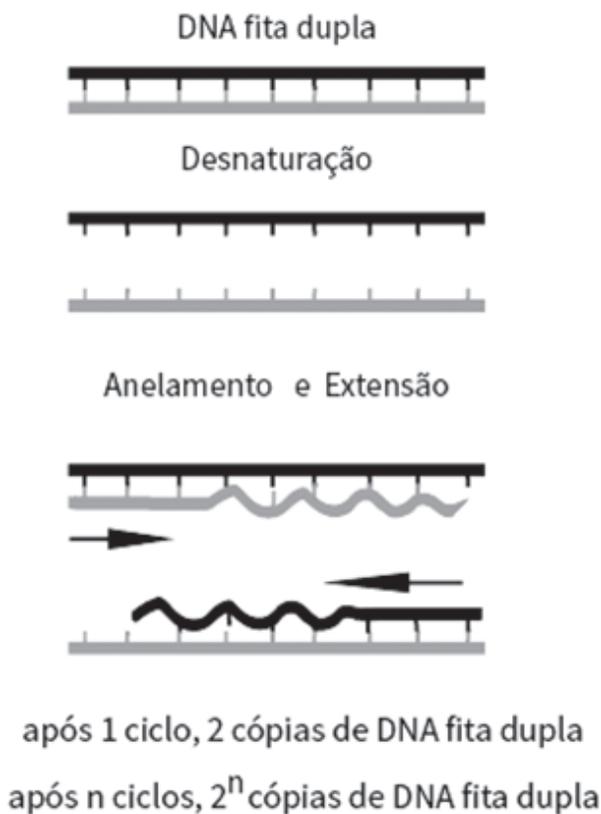


Figura 10. Representação esquemática de reação em cadeia da polimerase (PCR).

Ilustração: Diva Maria de Alencar Dusi; Júlio Carlyle Macedo Rodrigues.

354 Em que consiste a cultura in vitro?

Cultura in vitro é a cultura de tecidos e células realizada a partir de um fragmento da planta que queremos cultivar, um explante. Esse

fragmento pode ser um tecido ou órgão da planta. Essas técnicas permitem, entre outros, a regeneração a partir de tecidos somáticos de plantas, incluindo suas sementes para a obtenção e propagação de clones (plantas idênticas). Permite também a limpeza clonal a partir de meristemas apicais das sementes, bem como o resgate de embriões das sementes imaturas. A cultura in vitro é uma etapa essencial para utilização dos métodos de engenharia genética para o melhoramento de plantas.

355 Todas as plantas podem ser cultivadas in vitro?

Em princípio, todas as plantas podem ser cultivadas in vitro, mas o método de cultura e regeneração e o tecido de origem devem ser estabelecidos experimentalmente para cada genótipo de interesse. Algumas plantas, por razões desconhecidas, são mais recalcitrantes, ou seja, resistentes à regeneração in vitro, do que outras. Em plantas com limitação da produção de sementes, essa técnica é interessante, uma vez que muitas plantas podem ser multiplicadas e mantidas in vitro.

356 Qual a aplicação da cultura in vitro no melhoramento de plantas?

A cultura in vitro, ou cultura de tecidos, é bastante utilizada no melhoramento vegetal, por causa de suas várias aplicações. Ela amplia a possibilidade de propagar vegetativamente um número grande de amostras, como também é utilizada na manutenção de coleções, intercâmbio e avaliação de germoplasma e na eliminação de patógenos. Mesmo a produção de mudas livres de vírus, que podem ser transmitidos via semente, é obtida por cultura in vitro, usando-se como explantes meristemas isolados da planta de interesse. A cultura de tecidos é usada também no resgate de embriões, fertilização in vitro, alteração da ploidia pela produção de plantas haploides ou de plantas duplicadas, produção de mudas via semente sintética e transformação de plantas.

357

Como a alteração do nível de ploidia das plantas pode auxiliar o melhoramento vegetal?

A ploidia dos progenitores de uma planta pode influenciar no melhoramento vegetal, pois influencia na compatibilidade do cruzamento. A ploidia de uma planta é definida como o número de conjunto de cromossomos numa célula. As plantas haploides têm um conjunto de cromossomos, enquanto as diploides têm dois conjuntos. Técnicas de cultura de tecidos podem ser utilizadas para a obtenção de plantas haploides, duplo-haploides ou plantas poliploidizadas (com ploidia duplicada). Por exemplo, a cultura in vitro de anteras ou micrósporos é bastante utilizada para produzir plantas diploides a partir de plantas tetraploides. As plantas diploides resultantes são utilizadas em cruzamentos com outros parentais diploides. É possível também a obtenção de plantas haploides a partir das diploides e a produção de duplo-haploides, que podem ser cruzados com outras plantas diploides. O contrário também pode acontecer: a produção de plantas tetraploides a partir das diploides e o cruzamento entre as tetraploides, gerando plantas férteis. Cruzamentos entre plantas da mesma espécie, no entanto, com ploidias diferentes – como acontece em *Brachiaria* (Trin.) Griseb. em muitos casos –, resultam em esterilidade, isto é, em não produção de sementes ou em baixa performance da progênie.

358

Plantas haploides produzem sementes?

As plantas haploides são comumente fracas, não produzem sementes (estéreis) e são de baixa performance, sendo, portanto, necessária a partir delas a obtenção de plantas duplo-haploides (DH). O principal método de indução artificial de haploides é a indução in vitro. Na indução in vitro, células haploides de organismos diploides são cultivadas in vitro para indução de embriogênese somática com formação de embrião haploide e regeneração de plantas haploides. Os explantes fornecedores de células haploides mais utilizados são os micrósporos isolados ou as anteras, mas também podem ser

utilizados grãos de pólen, gametas masculinos e femininos, megásporos, óvulo ou até mesmo todo o ovário.

359

Como podem ser obtidas plantas com o número de cromossomos duplicado a partir de sementes?

A aplicação de colchicina – inibidor de formação de microtúbulos, uma substância antimitótica – em sementes ou em meristemas e ápices caulinares de sementes germinadas levará à duplicação do número cromossômico, ocasionando a produção de plantas poliploidizadas. A colchicina inibe a divisão celular, mas não a duplicação dos cromossomos. Se aplicada em plantas haploides ou em embriões somáticos haploides, dará origem a duplo-diploides (DH). Estas últimas são bastante úteis em programas de melhoramento, uma vez que são totalmente homozigóticas, portanto, possuem estabilidade fenotípica. A indução de DH pode ocorrer logo após a produção de híbridos em espécies autocompatíveis. Desse modo, o genótipo resultante do cruzamento produzirá linhagens homozigóticas, as quais são comumente utilizadas em retrocruzamentos de híbridos.

360

O que é a técnica de fertilização in vitro?

A fertilização ou fecundação in vitro consiste na fusão in vitro de células espermáticas com as oosferas, sendo importante no melhoramento, pois elimina a maioria das barreiras que interferem na fertilização. Existem várias técnicas diferentes de fertilização in vitro. As células reprodutivas, os gametas masculino e feminino, podem ser isoladas e cocultivadas de modo a induzir a fusão das células. Utilizam-se também ovários isolados e fazer a polinização in vitro na região da micrópila. Nesse caso, o grão de pólen germina in vitro e penetra na micrópila do óvulo, depositando as células espermáticas no saco embrionário, evitando, assim, todo o caminho de germinação no estigma e crescimento até a micrópila. Depois da fertilização in vitro, é feito o resgate de embriões para

o desenvolvimento do embrião. Essa técnica tem potencial para produção de híbridos interespecíficos e intergenéricos, além de poder ser utilizada para superar a autoincompatibilidade e incompatibilidade cruzada.

361

Por que se utiliza o resgate de embriões para espécies cultivadas?

Muitas espécies cultivadas não possuem, em suas populações ou em seus acessos conservados, variabilidade genética suficiente para as necessidades do melhoramento genético. Na procura por incorporação de características agronômicas desejáveis, tais como resistência a pragas e tolerância à seca, uma das alternativas pode ser o cruzamento da planta cultivada com plantas de outra espécie, como as espécies silvestres. Esses cruzamentos entre duas espécies distintas, ou seja, interespecíficos, resultam muitas vezes em embriões incapazes de se desenvolver e dar origem a uma planta. Nesse caso, é possível utilizar técnica de cultura de tecidos ou de embriões *in vitro*, denominada resgate de embriões. Após o cruzamento, que pode ser *in vivo* ou por fecundação *in vitro*, os embriões isolados, ou ovário ou óvulos fecundados, são introduzidos em meios de cultura apropriados para desenvolvimento em plântulas que posteriormente serão aclimatadas em solo. Essa técnica, entretanto, depende da resposta dos explantes às condições de cultura *in vitro*, tais como nutrientes do meio de cultura, luminosidade, temperatura, tempo de cultivo, etc.

362

O resgate de embrião pode ser usado para espécies não domesticadas?

Sim. Essa técnica pode ser utilizada para a manutenção e a regeneração de genótipos importantes, sempre que detectado o comprometimento da qualidade fisiológica de germoplasma-semente. A técnica é amplamente empregada para a regeneração de embriões de sementes com comportamento ortodoxo, intermediário ou recalcitrante antes e após a criopreservação de germoplasma de

espécies não domesticadas. Em sementes ortodoxas, o resgate de embrião é feito quando seus componentes de reserva são lipídicos ou aleuro-oleaginosos, com maior probabilidade de peroxidação lipídica. Em sementes de comportamento intermediário, o resgate de embrião é adotado antes e após congelamento em nitrogênio líquido, mesmo que as sementes sejam criopreservadas inteiras. Para as sementes de comportamento recalcitrante que possuem eixos embrionários muito pequenos, como as de algumas espécies da família *Arecaceae* e de espécies cujas sementes se oxidam durante o manuseio, o resgate de embrião é utilizado para a avaliação do material biológico antes e após criopreservação.

363

É possível usar a biotecnologia para produzir sementes de reprodução clonal?

Plantas que produzem sementes clonais são de grande interesse para a agricultura, uma vez que suas sementes dão origem a plantas idênticas. No entanto, essa característica de produzir sementes clonais, denominada apomixia, não ocorre naturalmente em muitas das principais culturas agronômicas, sendo mais frequente em gramíneas forrageiras. Para produzir sementes clonais, plantas apomíticas produzem gametas sem redução meiótica e independem da contribuição paterna para a formação do embrião. Muitos grupos de pesquisa vêm buscando o isolamento de genes da apomixia em diferentes espécies como *Brachiaria* (Trin.) Griseb., *Paspalum* L., *Pennisetum* Schum., *Hieracium* L. Uma vez conhecendo os genes que controlam a apomixia em plantas, será possível transferir, através de transgenia, essas características para plantas sexuais de importância agronômica, a fim de fixar genótipos superiores e facilitar sua multiplicação.

364

O que é semente sintética?

Semente sintética é a semente artificial produzida em laboratório a partir do revestimento de propágulos de planta. Estes

propágulos podem ser embriões somáticos e brotos, que são encapsulados, armazenados e, quando utilizados para semeadura, produzem plantas. A semente sintética permite a propagação em larga escala de plantas clonais – que uniformizam o plantio e sincronizam a colheita – e a preservação de espécies raras ou em perigo de extinção. Essa técnica vem sendo utilizada na conservação de diferentes espécies de plantas.

365 Como é produzida uma semente sintética?

Na semente sintética o embrião somático ou outro propágulo é encapsulado na presença ou não de nutrientes, substâncias utilizadas no controle de contaminação e reguladores de crescimento que constituem o endosperma artificial. Há vários métodos de produção descritos, sendo o de maior aplicação – por causa de sua baixa toxicidade, custo e facilidade no manuseio – a gelificação em alginato de sódio por íons de cálcio. As etapas da produção de semente sintética são:

- Estabelecer o processo de produção de propágulos, como a embriogênese somática.
- Sincronizar o desenvolvimento do embrião somático maduro.
- Produzir os embriões somáticos em massa, em biorreator.
- Encapsular os embriões em matriz artificial.
- Semear.

366 Qual a relação entre cultura de tecidos e engenharia genética?

A produção de sementes transgênicas, amplamente utilizadas na nossa agricultura, passa pelo processo de transformação genética de plantas progenitoras. As metodologias de transformação genética – seja para produção de plantas transgênicas, seja para plantas editadas – utilizam explantes para o processo de introdução de

vetores contendo os transgenes ou a maquinaria de edição genômica. A partir desses explantes, é necessário obter uma planta adulta pelo processo de regeneração em cultura de tecidos. Sem um método de regeneração eficiente, o processo de engenharia genética de plantas seria muito difícil.

367

Por que algumas sementes são conhecidas como transgênicas?

A transgenia é um método de produzir um organismo geneticamente modificado mediante técnicas de engenharia genética e biotecnologia. É caracterizada pela inserção de um ou mais genes de um organismo para o genoma de outro organismo, por isso a designação “trans” (Figura 11). Em plantas, a inserção de transgenes resulta em característica distinta da planta parental não transgênica, que é transmitida para as próximas gerações pela semente. Cada genótipo que recebe um ou mais transgenes em locais específicos do seu genoma é considerado como um evento transgênico. Sementes transgênicas vêm sendo comercializadas no mundo desde a liberação do primeiro produto em 1994 nos Estados Unidos, o tomate Flavr Savr. É importante distinguir a definição de transgenia da de plantas geneticamente modificadas (PGM). PGM podem ser obtidas por meio de vários processos, como: a) melhoramento convencional – é uma forma de modificar geneticamente uma planta; b) mutagênese, RNA interferente, edição genômica – são outras formas de modificar geneticamente uma planta.



Figura 11. Representação esquemática da germinação de semente transgênica mostrando fragmento de DNA exógeno (ponto preto) inserido no DNA da semente de milho (*Zea mays* L.).

As sementes transgênicas são produzidas por plantas transgênicas, ou seja, aquelas nas quais o DNA foi manipulado por engenharia genética. São duas as formas de transformação genética de plantas: a transformação direta e a indireta. Na transformação direta estão as técnicas de transformação de protoplastos e bombardeamento ou aceleração de partículas, nas quais um fragmento de DNA é introduzido diretamente no genoma da célula. Na transformação indireta estão as técnicas que envolvem espécies de *Agrobacterium* que carregam plasmídeos, que são introduzidos nas células e têm o potencial de liberar e integrar um fragmento de DNA no genoma da célula.

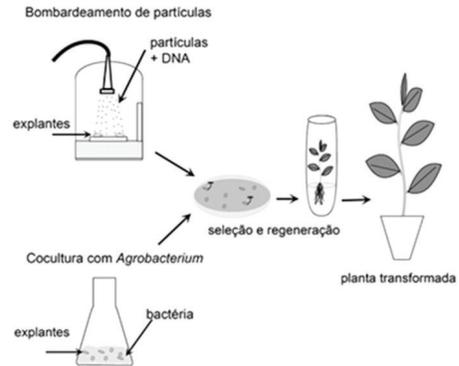


Figura 12. Representação esquemática de transformação genética.

Quais as vantagens das sementes transgênicas sobre as convencionais?

As sementes transgênicas são sementes de plantas melhoradas geneticamente. Essas plantas podem possuir características não encontradas nas espécies silvestres ou cultivadas, conferindo vantagens para o produtor e o consumidor; características que, de outro modo, seriam muito difíceis de encontrar na natureza ou produzir por cruzamentos convencionais. Existem vários exemplos de transgênicos comercializados com genes de outras espécies dos quais se destacam sementes de plantas resistentes a pragas, tolerantes a herbicida, com enriquecimento alimentar como o arroz dourado, rico em vitamina A. A transgenia oferece a vantagem de introduzir características que facilitam o manejo da cultura, favorecendo indiretamente a maior produção de sementes.

370 É possível identificar se uma semente é transgênica?

Sim, utilizando técnicas bioquímicas, moleculares e observando características fenotípicas. Pode-se até detectar qual o gene, o local no genoma da planta e o número de cópias inseridas por técnicas de PCR. Existem kits de detecção que permitem detectar proteínas específicas que só estão presentes na planta transgênica. Para que a planta seja cultivada no Brasil, é necessário que os resultados de todos esses testes de detecção, entre vários outros, sejam apresentados à Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). De acordo com o Decreto nº 4680/2003, alimentos vendidos para consumidores, mesmo ração animal, os quais contenham acima de 1% de semente transgênica na sua composição, devem conter essa informação na embalagem (a letra T num triângulo amarelo). Porém, em 2016, o Supremo Tribunal Federal (STF) decidiu que alimentação com qualquer percentagem de transgênicos deve ser rotulada. Os testes utilizados para a detecção de transgênicos são testes de tira, ou imunocromatográficos, teste ELISA (do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*), ou imunoenaios, e de PCR. Para quantificação exigida por lei, é necessário utilizar o PCR quantitativo.

371 Quais são as características necessárias às sementes transgênicas para a liberação para uso comercial?

As sementes de plantas transgênicas utilizadas comercialmente devem ter as características morfológicas semelhantes às da planta de origem. Uma exceção é se o gene introduzido visa à modificação de alguma característica da semente, como, por exemplo, para aumento de teor de óleo, para produção de fármacos, etc. Essas modificações alteram principalmente o teor químico da semente, mas podem alterar sua coloração ou seu tamanho. Um exemplo interessante ocorre com o arroz dourado, que nas Filipinas foi aprovado para consumo em 2019. Trata-se de um arroz modificado geneticamente para aumentar a produção de betacaroteno, precursor da vitamina A. Por isso, as sementes têm coloração dourada em relação ao arroz comum. O arroz é transformado com duas enzimas da via de biossíntese de

betacaroteno para o acúmulo na semente. O produto tem o potencial de fornecer de 30% a 50% da necessidade diária de vitamina A em humanos e, portanto, é um suplemento importante no combate à deficiência de vitamina A no mundo, que mata 4.500 crianças por dia. Esse problema é particularmente importante em locais de vulnerabilidade econômica na Ásia, onde o arroz é o principal alimento consumido.

372

Quais são as culturas agrícolas que são comercialmente produzidas no Brasil por meio de sementes transgênicas?

O Brasil ocupa o segundo lugar entre os principais produtores de transgênicos do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos. Atualmente no Brasil, há seis culturas agrícolas liberadas comercialmente com eventos transgênicos: soja [*Glycine max* (L.) Merr.], milho (*Zea mays* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e eucalipto (*Eucalyptus* L'Hér.). Boa parte desses eventos tem as características de resistência a herbicidas e insetos ou ambas as características na mesma planta, sendo que, em milho, são 49 dos 52 eventos, em soja, 16 dos 17 eventos, e em algodão, todos os 22 eventos. O evento de feijão é para resistência à virose, enquanto os cinco eventos de cana-de-açúcar estão relacionados à tolerância a insetos. O evento de eucalipto é para aumento volumétrico de madeira.

373

É possível produzir fármacos em sementes?

Sim. É possível armazenar proteínas de interesse, como alguns fármacos, em sementes para posterior purificação. Em soja, a utilização de sementes como biofábricas para a produção de fármacos se utiliza da substituição da proteína β -conglícinina, principal proteína de reserva em soja, pelo peptídeo ou proteína de interesse. Em geral sementes de soja têm conteúdo de proteína entre 30% a 45%, armazenadas em vacúolos subcelulares denominados PSV (do inglês, *protein storage vacuoles*). Considera-se como vantagem desse método de produção de fármacos em plantas seu baixo custo de produção, uma vez que

a planta de soja pode ser facilmente crescida em casa de vegetação com condições apropriadas para otimizar produção de sementes, e em condições de biossegurança com possibilidade de produção em larga escala. Outra vantagem é a estabilidade da proteína produzida, uma vez que os PSV em sementes podem ser armazenados por vários meses ou anos sem perda de função das proteínas de interesse. Outras vantagens são comuns à utilização de sistemas vegetais de um modo geral, como modificações pós-traducionais eucarióticas das proteínas de interesse. Dessa forma, a plataforma de soja para produção de fármacos vem sendo testada e desenvolvida com diferentes graus de sucesso. Da mesma maneira, outras sementes que produzem proteínas, como milho, também podem ser desenvolvidas com esse propósito.

374

Sementes modificadas geneticamente podem auxiliar no combate às mudanças climáticas?

Sim. Sementes modificadas geneticamente podem contribuir para mitigar os efeitos das mudanças climáticas. Um exemplo é uma variedade de arroz recentemente criada para reduzir a produção de metano, um dos principais gases de efeito estufa, a partir de plantações de arroz irrigado que ocorrem principalmente na Ásia. Plantações de arroz inundado correspondem a aproximadamente 10% da produção de metano antropogênico atmosférico. Essas sementes modificadas de arroz receberam um gene de cevada denominado *SUSIBA2*, em que o açúcar é predominantemente distribuído para a parte aérea da planta, diminuindo a quantidade de metano produzido e aumentando a quantidade de amido armazenado na semente do arroz modificado. Em plantas de arroz não transgênicas, boa parte do açúcar se acumula na raiz, onde é metabolizado por bactérias, levando à produção de gás metano. Ou seja, pela modificação genética ocorreu melhora nutricional e o cultivo de arroz irrigado ganhou em segurança ambiental. Estudos em larga escala estão sendo conduzidos para confirmar os resultados preliminares, visando a seu uso comercial.

375

A utilização de sementes transgênicas na agricultura é ambientalmente sustentável?

Sim. Considerando-se as principais culturas geneticamente modificadas (GM) utilizadas no mundo, sementes de soja, milho e algodão, para as características de resistência a insetos e a herbicida, e considerando-se os fatores de sustentabilidade, como produtividade por área, emissão de gases de efeito estufa e uso de pesticidas, estima-se um impacto positivo de 37% no meio ambiente nos 18 anos de utilização da tecnologia de sementes GM. Em 20 anos de uso de algodão resistente a insetos (1996–2016), houve uma redução de 230 mil toneladas no uso de inseticida. Isso sem causar efeitos maléficis em populações de insetos não alvos, como polinizadores (dados do Instituto de Pesquisa VIB, Ghent, Bélgica). A combinação de resistência a herbicida, particularmente no uso da cultura da soja, com o manejo do solo por meio de plantio direto, resultou na economia de 6,3 bilhões de litros de combustível, levando a uma redução de 16,8 milhões de toneladas métricas de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera. Em termos de produtividade, foi verificado um aumento médio de produtividade de 5,6% a 24,5% de milho nesse período. A utilização dessas tecnologias também aumentou a eficiência de produtividade por hectare. Por exemplo, seria necessário aumentar a área plantada em 7,5 milhões de hectares de soja, 8,9 milhões de hectares de milho e 3,7 milhões de hectares de algodão para atingir os níveis de produtividade de 2014, sem a utilização das tecnologias GM – Relatório da empresa de consultoria (PG Economics, 2021).

376

O que é a tecnologia genética de restrição de uso ou Gurt, e como ela é utilizada na produção de sementes?

Gurt é a abreviatura de tecnologias genéticas de restrição de uso ou *genetic use restriction technologies*. Essas tecnologias permitem expressar ou não expressar genes em determinado

estádio de desenvolvimento da cultura ou geração da planta. A ideia é de regular a expressão de genes para que sejam expressos em momentos precisos do desenvolvimento da planta. Duas tecnologias se destacam: T-Gurts e V-Gurts. T-Gurts modificam a planta para que, em contato com indutores químicos externos, ela expresse uma característica desejável. Plantas produzidas com tecnologias V-Gurts ou terminator produzem plantas cujas sementes são estéreis, tornando inviável a produção de sementes pelo próprio agricultor, como ocorre frequentemente.

377 **No Brasil é possível utilizar a tecnologia genética de restrição de uso?**

Depende. As tecnologias genéticas de restrição de uso (Gurt) podem ser consideradas como recurso para o desenvolvimento de novas cultivares, mas geram ainda preocupações no campo da biodiversidade, da segurança alimentar e, principalmente, no direito dos produtores de replicarem a própria semente. Desse modo, no Brasil a legislação proíbe as técnicas Gurt no caso de ela afetar a fertilidade da semente. Existem, no entanto, possibilidades de uso seguro e estratégico que devem ser consideradas pela sociedade e o agricultor, como, entre outras, sua utilização em estratégias de biossegurança e garantia de pureza varietal.

378 **Quais são as perspectivas para as plantas geneticamente modificadas?**

Os avanços nas áreas de genômica, transcriptômica, proteômica e a compreensão dos fatores moleculares que controlam processos biológicos abrem múltiplas possibilidades para inserir características em plantas voltadas para alimentação. É necessário explorar a biodiversidade para compreender e introduzir características como: adaptação para condições locais, fatores de resistência para diversas doenças que assolam culturas não commodities, adaptação e resiliência a temperaturas extremas e aumento de fatores

nutricionais e farmacêuticos. Essas características são demandadas por produtores e consumidores e podem ter maior espaço no mercado. Novos produtos desenvolvidos com essas características podem contribuir significativamente para atender a vários Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), como cultivares mais resistentes para produtores locais, segurança alimentar, uso sustentável de ecossistemas, redução de desigualdades. Existe, ainda, a possibilidade de combinar várias características em uma mesma planta, num processo chamado *stacking*. Já existem no mercado sementes de soja com duas características transgênicas – resistência a insetos e resistência a herbicida, mostrando a viabilidade dessa tecnologia.

379 Como são obtidas plantas mutantes?

Plantas mutantes são produzidas de diferentes maneiras: por meio de substâncias químicas mutagênicas, sendo a mais comum o metanossulfonato de etila (EMS), agentes físicos, sendo o mais comum a utilização de radiação gama, e agentes biológicos, como a bactéria *Agrobacterium* com a inserção de T-DNA no genoma da planta. Essas mutações criam deleções, translocações, rearranjos aleatórios no genoma da planta e, dessa forma, produzem mutantes, que podem ser utilizados em estudos de função gênica ou em programas de melhoramento. Para a introdução de sementes mutantes no Brasil, é importante saber a origem da mutação, se física, química ou se biológica, uma vez que a legislação pode ser diferente, dependendo da origem da mutação.

380 Qual é a finalidade e como são organizados os bancos genéticos de sementes mutantes?

A finalidade de manter a coleção de mutantes em bancos genéticos é fornecer material para estudos de genética reversa, que permite conhecer a função de diversos genes. Os principais catalisadores desse avanço foram os centros de recursos biológicos

da planta-modelo *Arabidopsis*, muito utilizada no estudo da função de genes. Esses centros, criados na década de 1990, são responsáveis por coletar, preservar e distribuir recursos genéticos de *Arabidopsis*, incluindo mutantes, ecótipos e clones, para a comunidade científica. À época, dois grandes centros foram criados com o auxílio de financiamento público: *Arabidopsis Biological Resource Center* (ABRC), na Universidade de Ohio, Estados Unidos, e o *Nottingham Arabidopsis Stock Center* (Nasc), na Universidade de Nottingham no Reino Unido. Estes centros padronizaram as informações das coleções, concentraram a distribuição de recursos genéticos em larga escala, e o fizeram de forma não competitiva, ou seja, não havia interesse em propriedade intelectual, abrindo grande possibilidade para laboratórios, em várias partes do mundo, iniciarem pesquisas genéticas e moleculares de *Arabidopsis*. Atualmente existem diversas coleções públicas e privadas, não apenas de *Arabidopsis* como de outras plantas.

381 O que é biologia sintética?

A biologia sintética, assim como a engenharia genética, visa criar ou aperfeiçoar sistemas biológicos existentes com características de interesse que não estão naturalmente disponíveis nesses sistemas. Ela combina conhecimentos de engenharia, computação e de diferentes campos da biologia, além da engenharia genética. Enquanto a engenharia genética transfere, na maior parte das vezes, genes individuais de um organismo a outro, a biologia sintética pretende montar novos genomas, ou transformar genomas existentes, a partir de componentes genéticos previamente caracterizados.

382 Sementes produzidas por edição genômica são a mesma coisa que sementes transgênicas?

Um organismo geneticamente modificado é considerado transgênico quando recebe um ou mais genes de outro organismo,

quebrando barreiras dos mecanismos de evolução. Exemplos claros são a introdução de genes de uma espécie em outra espécie, mesmo pertencentes a diferentes reinos, como entre bactérias e plantas. Edição genômica, por sua vez, é uma ferramenta que permite modificar o genoma de um organismo para promover, de forma precisa, mutações neste genoma, ou seja, não envolve necessariamente transferência de genes entre espécies. O Prêmio Nobel de Química de 2020 foi concedido a duas pesquisadoras responsáveis por desenvolver uma técnica de edição genômica denominada CRISPR (do inglês, *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, ou conjunto de repetições palindrômicas curtas regularmente interespaçadas). É uma metodologia que permite modificar o genoma de um organismo com alta precisão, deletando genes ou “consertando defeitos” em genes existentes no organismo. Portanto, embora seja uma técnica de engenharia genética, as modificações feitas no genoma da espécie são deleções ou substituições de bases, que não diferem do processo evolutivo. No entanto, por causa da técnica, a edição genômica pode ser feita com rapidez e precisão muito maiores. Por causa dessa diferença significativa, a regulamentação de sementes geradas por essa nova tecnologia pode ser diferente das sementes transgênicas, e elas serem consideradas como mutantes naturais, uma vez que não haveria resquíio de transgenes ou do vetor utilizado na edição no genoma da planta. A Resolução Normativa nº 16/2018 da CTNBio² cria um arcabouço jurídico para que produtos gerados por edição genômica não sejam considerados organismos geneticamente modificados.

383 O que são marcadores moleculares?

Marcadores moleculares, conhecidos também como marcadores genéticos, são genes ou sequências de DNA associadas com um determinado gene ou característica. Os marcadores

² Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/-/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-n%C2%BA-16-de-15-de-janeiro-de-2018.

moleculares são herdados geneticamente e não são influenciados pelo ambiente. Existem vários tipos de marcadores moleculares e os mais importantes são: alozimas; DNA mitocondrial, mtDNA; polimorfismo no comprimento dos fragmentos de restrição (do inglês, *restriction fragment length polymorphism* – RFLP); DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (do inglês, *random amplification of polymorphic DNA* – RAPD); AFLP (do inglês, *amplified fragment length polymorphism*); microssatélites (do inglês, *simple sequence repeats* – SSR); polimorfismos de base única (do inglês, *single nucleotide polymorphism* – SNP); código de barras de DNA (do inglês, *DNA barcoding markers*).

384

Marcadores moleculares e bioquímicos podem ser utilizados para verificar a qualidade das sementes?

Sim. A qualidade da semente compreende pureza genética, potencial de germinação, vigor e estado de saúde da semente. Entre as aplicações na utilização de marcadores moleculares para a avaliação de sementes, estão:

- O grau de pureza genética, incluindo contaminação com genótipos derivados de autopolinização, polinização cruzada ou contaminação física.
- Segregação de homozigidade e heterozigidade.
- Contaminação de sementes não transgênicas com sementes transgênicas.
- Identificação de cultivares e cultivares derivadas para proteção.

385

Marcadores moleculares e bioquímicos podem ser utilizados para verificar a pureza genética das sementes?

Sim. No âmbito da Lei de Proteção de Cultivares (LPC) e do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) (Brasil, 1997), é permitida a utilização de marcadores moleculares para definir uma

cultivar por sua distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade. Os marcadores mais utilizados para esses fins são os baseados em SSR e SNP.

Análises com isozimas podem ser utilizadas para detectar a identidade e pureza de uma variedade. Essa técnica é relativamente mais simples, barata e acessível do que as demais.

386

Marcadores moleculares e bioquímicos podem ser utilizados para verificar a viabilidade das sementes?

Marcadores moleculares para avaliar o nível de envelhecimento de sementes estão em desenvolvimento. O processo de deterioração, que leva à perda da viabilidade, é complexo, e vários marcadores são necessários.

A síntese de etileno pode ser usada como indicador de deterioração da semente, pois, quando baixa, indica danos na membrana. A formação de etileno pode ser dosada durante a embebição da semente. O acúmulo de açúcar, correlacionado com as taxas de desidratação da semente, pode ser um bom indicador para a capacidade de armazenamento da semente, como os oligossacarídeos da família rafinose, (do inglês, *raffinose family oligosaccharides* – RFO). Rafinose é acumulada com a maturação da semente, sendo utilizada pelas sementes durante a germinação; Outros marcadores de germinação de sementes incluem algumas *heat shock proteins* (HSPs), como a HSP24.7, uma ativadora da germinação dependente de temperatura, que acelera a germinação (Ma et al., 2019); *late embryogenesis abundant protein* (LEA), que se acumulam nos últimos estádios do desenvolvimento da semente quando a tolerância à dessecação é adquirida e sua presença pode estar relacionada com melhor germinação; e marcadores do ciclo celular. Estes últimos para sementes ortodoxas, nas quais a maturidade pode ser monitorada pela razão número de células embrião/endosperma, baseada no conteúdo de DNA dos núcleos correspondentes. Marcadores para viabilidade podem ser:

desidrogenase alcoólica desidrina, lactato desidrogenase e malato desidrogenase, encontrados apenas em sementes viáveis.

387

Há marcadores para detectar a tolerância de sementes ao dessecação?

Sim. A atividade de algumas enzimas antioxidantes pode ser correlacionada com a manutenção de níveis de *reactive oxygen species* (ROS) em patamares não tóxicos para as células, servindo, portanto, de marcadores. A integridade de membrana é utilizada para saber a tolerância à dessecação em sementes ortodoxas, que passam por dessecação após a maturação. O vazamento de solutos indica baixa qualidade da semente e pode ser utilizado como indicador da qualidade de sementes durante a embebição.

388

Há marcadores moleculares para identificar a dormência em sementes?

Sim. Marcadores para identificar dormência da semente – a ausência da germinação da semente viável, mesmo em condições adequadas – estão em desenvolvimento em plantas-modelo, como *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., ou em culturas, como arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.). A dormência da semente é uma característica quantitativa, governada por muitos genes, a qual está sob a influência de fatores genéticos, ambientais, fisiológicos e hormonais, podendo ser do tipo primária ou secundária. A dormência primária é desenvolvida na planta-mãe, enquanto a secundária é induzida em sementes que não eram dormentes. Marcadores SSR e SNPs podem ser usados para a caracterização da dormência. Exemplo de marcadores são os genes da família *DRM1/ARP* (do inglês, *dormancy associated gene-1/auxin-repressed protein*) (Rae et al., 2013), que parecem ter papel indireto na manutenção da dormência, assim como alguns

genes associados a estresse. Para amendoim foi desenvolvido o marcador GMFSD1 (Kumar et al., 2020).

389

É desejável que tecnologias genômicas sejam utilizadas para explorar o potencial das sementes conservadas em bancos genéticos convencionais ao redor do mundo?

A aplicação de tecnologias genômicas, hoje disponíveis em escala e preço que possibilitam explorar o potencial dos bancos genéticos, fornecerá subsídios para compartilhar informações genotípicas com as fenotípicas e de produtividade em uma plataforma integrada por pesquisadores, melhoristas e produtores. Estima-se que haja 7 milhões de acessos de culturas relevantes para alimentação sendo conservados em bancos genéticos convencionais no mundo. Uma iniciativa, nesse sentido, foi tomada em 2014 por meio da plataforma DivSeek³. Esta iniciativa visa não apenas utilizar o potencial genético de grãos e sementes já utilizados na dieta, como também explorar possibilidades nutricionais de outras sementes para ampliar a oferta de alimentos e contribuir para uma maior segurança alimentar local e mundial.

390

Existe interesse em se proteger as biotecnologias geradas?

Grandes investimentos são feitos em pesquisas que levam ao desenvolvimento de novas biotecnologias e produtos biotecnológicos. Esses investimentos, públicos ou privados, necessitam ser restituídos em forma de ganho para a sociedade, em lucro ou retorno do investimento, para que mais pesquisa seja feita e novos produtos sejam desenvolvidos. Assim, é de interesse da sociedade que os autores recebam os créditos por sua invenção e que os produtos sejam protegidos. Dentro desse contexto, a Lei de Inovação Tecnológica (Lei nº 10.973/2004) (Brasil, 2004) trouxe importantes avanços não apenas em propriedade intelectual, mas

³ Disponível em: <https://divseekintl.org/>.

na possibilidade de criar ambientes mais propícios para inovação em diversas áreas da pesquisa, inclusive em sementes modificadas geneticamente. Junta-se a isso a Lei de Cultivares e a opção de proteger cultivares transgênicas como cultivares essencialmente derivadas. Cria-se um ambiente que estimula investimento em pesquisa, tanto no setor público como no setor privado.

391

Existe legislação própria para a produção de semente transgênica?

Sim. Trata-se da Lei de Biossegurança (Lei nº 11.105/2005) (Brasil, 2005), que regula o tema biotecnologia, aborda a construção das plantas transgênicas, cobrindo as diversas etapas da produção, comercialização e liberação no meio ambiente e descarte.

Referências

BRASIL. Lei nº 10.973, de 2 de dezembro de 2004. Dispõe sobre incentivos à inovação e à pesquisa científica e tecnológica no ambiente produtivo e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, p. 2, 3 dez. 2004.

BRASIL. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, p. 1, 28 mar. 2005.

BRASIL. Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997. Institui a Lei de Proteção de Cultivares e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, p. 25162, 28 abr. 1997.

KUMAR, R.; JANILA, P.; VISHWAKARMA, M. K.; KHAN, A. W.; MANOHAR, S. S.; GANGURDE, S. S.; VARIATH, M. T.; SHASIDHAR, Y.; PANDEY, M. K.;

VASHNEY, R. K. Whole-genome resequencing-based QTL-seq identified candidate genes and molecular markers for fresh seed dormancy in groundnut. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, p. 992-1003. 2020. DOI: 10.1111/pbi.13266.

MA, W.; GUAN, X.; LI, J.; PAN, R.; WANG, L.; LIU, F.; MA, H.; ZHU, S.; HU, J.; RUAN, Y-L.; CHEN, X.; ZHANG, T. Mitochondrial small heat shock protein mediates seed germination via thermal sensing. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 10, p. 4716-4721, 2019. DOI: 10.1073/pnas.1815790116.

PG ECONOMICS. Disponível em: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/economista-britanico-apresenta-novo-relatorio-sobre-transgenic-os/20080627-085908-3736>. Acesso em 21 abr. 2021.

RAE, G. M.; DAVID, K.; WOOD, M. The dormancy marker DRM1/ARP: associated with dormancy but a broader role in planta. **Developmental Biology Journal**, Article ID 632524, June 2013. DOI:10.1155/2013/632524.