

00175
1973
FL-PP-00175

FL
00175

M.A. - DNPEA

IPEAN

SEMINÁRIOS TÉCNICOS



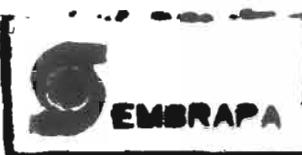
"INDUÇÃO DE MUTAÇÃO"

Engº Agrº Emeleocíprio B. de Andrade

Belém, 02 de Março de 1973

000175

1 - INTRODUÇÃO



As mutações ocorrem e sempre ocorreram na natureza em uma freqüencia variavel de especies para especies.

O primeiro a propor o têrmo mutações, foi Hugo De Vires (1901), através de seus estudos e observações em Onotheria. De suas observações surgiu a idéia de se tentar obter mutantes artificialmente.

Em 1905, Kocnicke e em 1908 Gager utilizaram raios - X em células. Em 1912, alguns resultados animadores foram obtidos por Schiemam com mutagênicos químicos. Entretanto sómente em 1927 é que H.S. Muller publicou um notável trabalho no qual provou mediante o emprego de uma elegante técnica, que a taxa de mutações em Drosophila é consideravelmente aumentada pelo tratamento com raios - X, o que lhe valeu um prêmio Nobel. No ano seguinte L.J. Stadler (1928) comprovou seus resultados trabalhando com milho e cevada. A partir de então, vários pesquisadores em diferentes partes do mundo, principalmente na Suécia, partiram para desvendar os segredos deste novo e fascinante campo.

Os primeiros resultados positivos de mutantes induzidos em plantas foram obtidos por Nilsson + Ehle e Gusterfssou em cevada, quando foram identificados os chamados tipos "erectoides" na Estação Experimental de Svalov, Suécia.

O QUE É MUTAÇÃO?

Mutações são mudanças bruscas e hereditárias que ocorrem na estrutura dos seres vivos. Dado a estas mudanças, os indivíduos apresentam uma forma, tamanho ou composição modificada.

Segundo Dobzhansky (1951), mutação "é qualquer mudança no genótipo que não é devida a recombinações de fatores mendelianos", isto em um sentido mais amplo. Mayr diz que mutação "é uma troca cromossômica descontínua com efeito genético".

De qualquer maneira, nós podemos dizer que mutações são eventos **raros**, resultantes de uma falha na duplicação do material genético, de efeito na maioria das vezes deletérios e geralmente recessivos. A sua baixa freqüência está a mostrar a perfeição da duplicação do material genético.

As mutações de uma maneira prática e didática podem ser classificadas como:

1. Citoplasmáticos - aquelas modificações localizadas no material genético (DNA) localizado no citoplasma: plastídios, mitocôndrios.
2. Nucleares - aquelas modificações localizadas no material genético situado no núcleo, as quais ainda podem ser:
 - a) Genómicos - quando todo o conjunto cromossômico básico (genoma) é multiplicado por mais de uma vez. Ex: Autopoliploidies, alloploidies.
 - b) Cromossômicos - quando apenas um ou poucos cromossomas são aumentados em número.
 - c) Estruturais - quando um ou mais cromossomos sofrem alterações na sua estrutura, dando origem a deficiências, duplicações, inversões, translocações.
 - d) Gênicos ou de ponto - são aquelas modificações que ocorrem à nível do gene, são as melhores mutações pois apresentam modificação sem grandes efeitos deletérios.

As mutações são de grande importância, haja vista serem elas a fonte de matéria-prima para a evolução dos seres vivos, a qual seguida da recombinação origina uma imensa variabilidade sobre

a qual atua a seleção natural.

No melhoramento, onde o homem imita a natureza, a variabilidade é impressindível. Sem variabilidade não há evolução nem melhoramento (PATERNIANI).

As mutações podem ainda quanto a sua origem ser espontâneas, quando ocorrem ser uma causa conhecida e induzidas, quando forçadas por quaisquer dos agentes indutores de mutações conhecidos. As causas das mutações espontâneas até hoje é assunto de debate. Várias teorias foram propostos, entre as quais a de que a taxa de radiação natural seria o responsável, entretanto Muller provou que a radiação não é suficiente para produzir mutações espontâneas, pelo menos na frequência que ocorrem. Outra teoria, é que metabólitos formados pela própria célula são responsáveis pelas mutações espontâneas uma vez que reagiram com o material genético.

MUTAÇÕES INDUZIDAS ..

São aquelas mutações obtidas através do uso de agentes que induzem a formação de mutações.

Os principais agentes indutores de mutações podem ser classificados da seguinte maneira:

1. Físicos:

a) Radiações ionizantes: raios γ , neutros, raios beta, raios gama e radioisótopos.

b) Radiações não ionizantes: raios ultra-violeta.

c) Temperatura.

2. Químicos: Gas mostarda, peróxidos orgânicos, etilmetano, formaldeido, sais ferrosos e de manganês, etileno clina, colchicina, etc...

Genéticos - Gen Dt no milho, sistema dissociador → activador (Dc-Ac), hibridação.

Raios - X - São facilmente disponíveis, fácil manejo, fácil de se medir a dosagem, pode ser ligado e desligado à vontade e não existe problema de eliminação de resíduo, daí ter sido o mais empregado em grande escala. A Sensibilidade dos organismos aos raios - x é variável e depende do material a ser irradiado, bem como de outros fatores.

Neutrons - é um agente mutagénico recente e são chamados neutrons térmicos, os quais são neutrons rápidos depois de moderados pelo grafite ou água pesada num reator nuclear até ter sua velocidades reduzida para a correspondente à energia térmica.

São mais eficientes na produção de mutações que os raios - X, porém causam maior frequência de mutações estruturais.

Raios - gama - Eram obtidos antigamente do radio ou radônio. Atualmente a fonte utilizada é o Cobalto-60 (Co-60). São radiações eletromagnéticas de grande penetração, mais potentes que os raios - X devido ao seu comprimento de onda ser mais curto. Os melhores trabalhos realizados com este tipo de radiação são os do Laboratório Nacional de Brookhaven (USA). No Brasil o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), utiliza o Co-60 como fonte para o trabalho de indução de mutações.

NATUREZA DAS MUTAÇÕES INDUZIDAS

Tem havido muitas discussões sobre se as mutações induzidas são da mesma natureza que as espontâneas. A maioria dos geneticistas creem hoje que ambos são da mesma natureza. A única diferença é a frequência com que ocorrem, pois os espontâneos a fazem em baixa frequência.

Muller (1952) revelou que não ocorre qualquer diferença entre as mutações induzidas por radiações que foram estudadas e as correspondentes espontâneas, ainda mais, que qualquer mutação induzida artificialmente tem uma correspondente idêntica na natureza base.

tando para encontra-la uma eficiente procura. Isto é de grande importância, pois pode-se obter mutações artificiais com altas frequências, que ocorrem na natureza e muitas delas de efeitos benéficos. É lógico que teremos grande quantidade de mutações deletérias, porém no melhoramento isto é secundário, pois o melhorista estará apenas visando aquelas que se adapte da melhor maneira ao seu fim pre-estabelecido. Nesta busca ocorrem muitos aberrações estruturais simulando mutações gênicas, como também ocorrem mutações gênicas propriamente ditas, ou seja, modificações no próprio gene.

FATORES QUE AFETAM OS EFEITOS DA RADIAÇÃO

É verdade que a dose da radiação que é aplicadas afeta de uma maneira direta o rendimento das mutações. Bem como condições intrínsecas da planta tratada: genótipo, idade e estádio da divisão celular. É sabido que fatores como atmosfera, principalmente o teor de oxigênio; umidades, temperatura e várias substâncias químicas aplicadas às células e tecidos vivos, antes e depois da radiação, modificam os efeitos.

Com raios γ tem sido demonstrado que a taxa de mutações aumenta na razão direta da dose aplicada. Em Drosophila, a dose de 1000 r aumenta a frequência de letais ligados ao sexo do nível "espontâneo" de aproximadamente 0,2% para cerca de 3%; 2000 r aumenta-a para cerca de 6%. 4000 r para cerca de 12% e assim por diante.

Num gráfico, esta relação entre dosagens e taxas de mutação, formam uma linha reta, cuja origem é praticamente zero, quando não é feita qualquer aplicação de raios γ . Logo, a frequência de mutações induzidas para raio γ não depende do tempo de aplicação. Baixas intensidades, por períodos longos, ou altas intensidades em períodos curtos, produzem os mesmos resultados.

Esta relação deu origem à teoria do alvo, a qual explica que a mutação é resultado do "impacto" da radiação no gene, que

funcionaria como "alvo".

Nesta teoria os raios ou partículas ionizantes, produzidos pela radiação, chocam-se com os genes, sendo que cada impacto tem alta probabilidade de ocasionar uma mutação. Se fosse necessário mais de um impacto para causar uma mutação, o resultado seria uma curva e não uma reta; como acontece com certas aberrações cromossômicas que necessitam de dois ou mais impactos; sua relação deságem e frequência de mutações, não é linear.

A idade é outro fator importante, nas sementes mais velhas a frequências de mutações é maior que nas mais novas. Plantas jovens são mais radiosensíveis que as mais adultas.

O estágio da divisão celular é bastante influenciado pela radiações. É sabido que células meióticos são mais sensíveis à radiação que os mitóticos, sendo a fase diplotênica e metafásica da meiose a de máxima sensibilidade.

A redução do teor de oxigênio diminui significativamente a taxa de mutações, demonstrado que fatores ambientais, também influencia nos efeitos genéticos das radiações. A temperatura pode influenciar de maneira marcante, como foi observado em estudos com cevada..

POSSIBILIDADES DAS MUTAÇÕES INDUZIDAS EM PROGRAMAS DE MELHORAMENTO.

Quaisquer tipos de plantas podem ser beneficiados. Existem entretanto certas considerações especiais que deve ser tomados : tipo de reprodução da planta, nível de ploidia hibridação estrutural, variabilidade natural e possivelmente grau de domesticação.

Grandes sucessos têm sido obtidos em melhoramento por mutações induzidas em: cevada, trigo, feijão, ervilha, linho e mais recentemente amendoin. (PATERNIANI)

Segundo Gustafsson e Mackey (1948) um ponto importante é a utilização inicial do melhor germoplasma disponível.

Alguns dos fatores, que exerceram influências o não uso de indução de mutações no melhoramento, foram: desconhecimento do modo de ação dos mutagênicos; grande quantidade de mutações deletérias e essencialmente do mesmo tipo das espontâneas a além do mais, os melhoristas de plantas tinham à sua disposição coleções de germoplasmos maior variabilidade do que necessitavamos em seus trabalhos.

Nas plantas de reprodução vegetativa o método se torna excelente pois não há necessidade de se fixar o genótipo por via sexual.

ALGUMAS MUTAÇÕES BENÉFICAS

Segundo Gustafsson, as mutações podem ser divididas em: mutantes morfológicos, que afetam caracteres qualitativos dando segregações definidas e mutantes fisiológicos, que afetam caracteres como precocidade, grau de perfilhação, produtividade etc... e constitue caracteres quantitativos. Ocorre o caso de mutações pleiotrópicas, como é o caso do carácter "erectoides" em cevada, o qual afeta várias caractesres.

Gustafsson (1951) obteve os chamados erectoides em cevada que se caracterizam por terem espigas e colmos maior resistência do calmo e maior condensação de grãos na espiga e maior preferencia por nitrogenio. São superiores em resistência que os normais e iguais ou superiores em produção. Sessenta mutantes erectoides já foram obtidos, sendo que 16 loci são responsaveis pelo caráter, ou seja, mutação em um destes loci podem dar o mencionado caráter.

Em ervilha uma mutação deu origem na nova variedade que devido ao hábito de ramificar mais que a original, tem como consequencia um aumento da produção.

Em oleoginosa mostarda branca, foi obtido uma mutação com 3% mais óleo que o original que após propagada em massa aumentou o teor de óleo para 4%.

Em forrageira de propagação vegetativa Poa pratensis $2n=$



72, verificou-se que a perda ou ganho de cromossomos pode ter valor seletivo. Uma variante obtida por raio-X com $2n=50$ revelou-se superior a variedade normal com relação à produção de sementes, matéria verde e matéria seca.

Nos E.E.U.U., um dos mutantes mais importantes é o da Mentha piperita obtidos por Murray (1969) cuja produção caiu assustadoramente devido os ataques do fungo Verticillium albo-atrum. Após testes com variedades resistentes em programas de hibridação, o gosto da menta foi sacrificado. Com indução de radiação em estolhos e pastos no corpo, após 6 anos foi obtido o mutante resistente e sem qualquer interferência no gosto.

Mutantes igualmente vantajosos tem sido obtidos em maçã, pêra, e muitos cereais.

VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DE DENTAÇÕES INDUZIDAS NO MELHORAMENTO:

Segundo Kouzak e Mackey (1956) as são as vantagens e utilidades do uso de mutações indugidas.

1. Possibilita melhorar uma só característica de uma variedade sem adição de variabilidade indesejáveis de outra fonte.
2. Tempo reduzido no melhoramento de um caráter simples.
3. Serve para induzir variabilidade genética onde esta não existe, é desconhecida ou inacessível.
4. Quebra de ligações muito fortes de genes ou bloco de genes e transferir estes segmentos de um cromossomo não homólogo para outro. Ex: Transferência da resistência à ferragem das folhas de Aegilops umbellulata para os trigos, feita por Seals.
5. O melhoramento é raramente acompanhado de alterações indesejáveis e de outros caracteres. Mesmo quando acontece é facilmente solucionado com poucos Retrocruzamentos

6. Pode ser obtido altos frequencias de mutantes em diploides e poliploides. Os ultimos apresentam certas vantagens por suportarem maior os mutantes desfavoraveis devido possuirem poder Tampão.

AS DESVANTAGENS SERIAM:

1. O uso prático é limitado a poucas caracteres e poucos espécies onde é possivel uma seleção eficiente dos mutações.
- 2: A capacidade de produzir certos mutantes varia com a variedade.
3. É necessário se trabalhar com grande número de indivíduos, inclusive gerações avançados.
4. É produzido junto com os mutações, aberrações cromossómicas e deficiencias que geralmente são indesejaveis.

CONSIDERAÇÃO:

O uso de mutações é um instrumento de que pode dispor o melhorista em seu trabalho. Entretanto devido ao pouco estudo, ainda está bastante desconhecido. Quando houver ausência de variabilidade em uma cultura ele serve de grande ajuda na formação da variabilidade desejada.

Com o decorrer do tempo, a seleção de agentes mutagênicos e classificação de seus efeitos principais e secundarios muito auxiliarão o melhorista inclusão de mutações desejaveis.

BIBLIOGRAFIA:

ALLARD, R.W., 1960 - Melhoramento genético por Mutação. in Princípios de melhoramento genético das plantas. Tradução 1971 p. 381

BRITO DA CUNHA, A. 1969 - Elemento de Genética - 2ª Cia Ed. Nacional, SP. p. 666

GUSTAFSSON, A. 1947 - Mutations in agricultural plants. Hereditas 33: 1 - 100

_____. 1969 - A study on induced mutations in plants. Induced

Mutations in Plant. Proceed. of a Symp. Pullman pag. 9 - 31.

MURRAY, M.J. 1968 - Successful use of radiation breeding to obtain Verticillium - resistant strains of peppermint, Mentha piperita L. Induced Mutations in Plants. Proceed. of a Symp. Pullman, pag. 345-371

PATERMIMI, E., 1963 - Radiação e Melhoramento. Aula dada no dia 17/10/73 no Curso Latinoamericano de Energia Nuclear aplicada à Agricultura.

RICE BREEDING with induced mutations III. Joint FAO/IAEA division of atomic energy in food and Agricultural. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1971. Technical Report Series N°131.

VIEIRA, C. 1970 - Mutação no Melhoramento de Plantas. Curso de Fito-melhoramento. Univ. Fed. de Viçosa cap. 22.