

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Melhoramento de plantas

Prof. Dr. João Antonio da Costa Andrade
Departamento de Biologia e Zootecnia

***BIOTECNOLOGIA NO
MELHORAMENTO***

Biotecnologia

Utilização de organismos no desenvolvimento de novos produtos e processos para a alimentação, saúde e preservação do ambiente.

Algumas técnicas biotecnológicas em plantas

- **Indução de poliploidia**
- **Cultura de tecidos**
- ***Cultura de protoplastos***
- ***Engenharia genética (Técnica do DNA recombinante)***

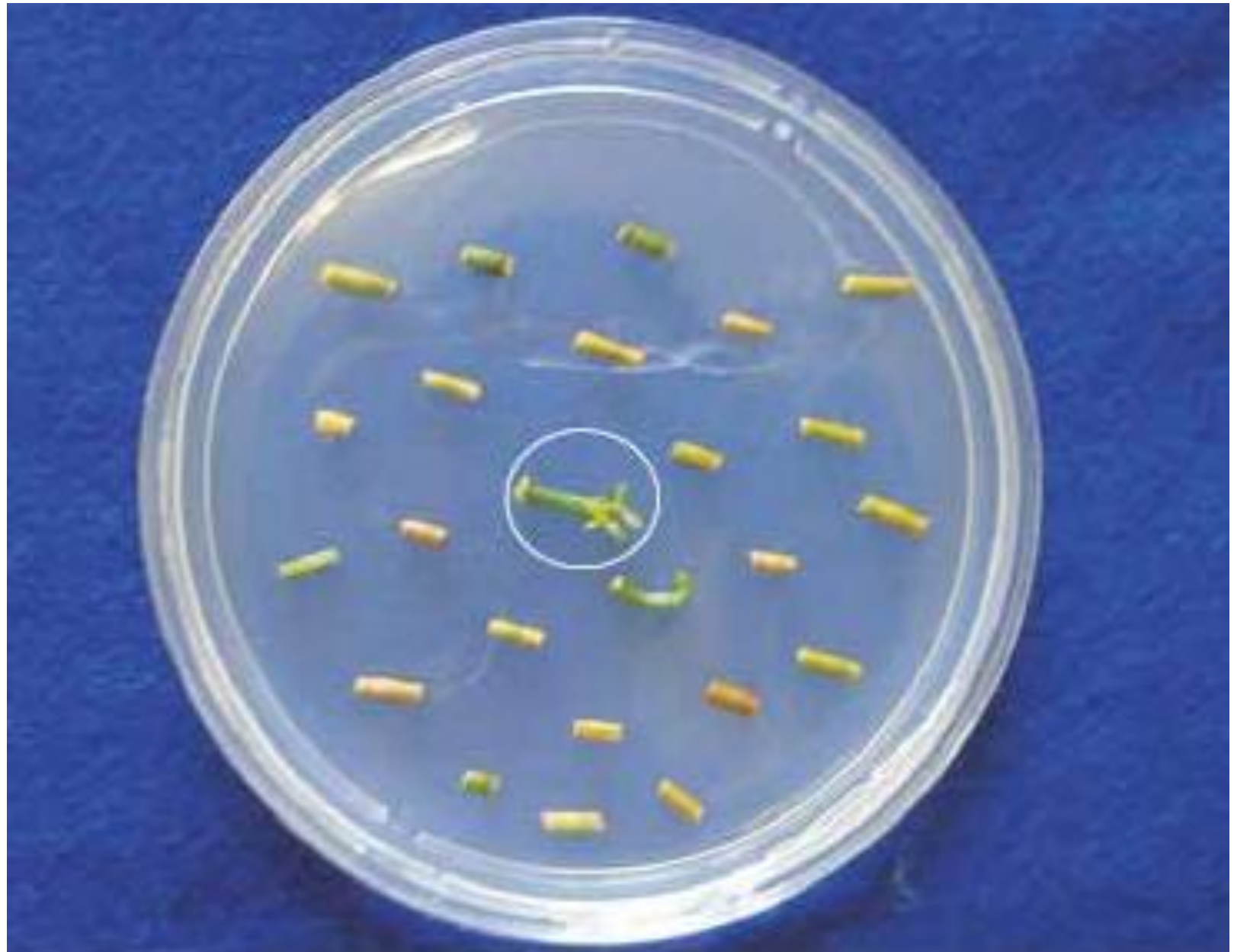
BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

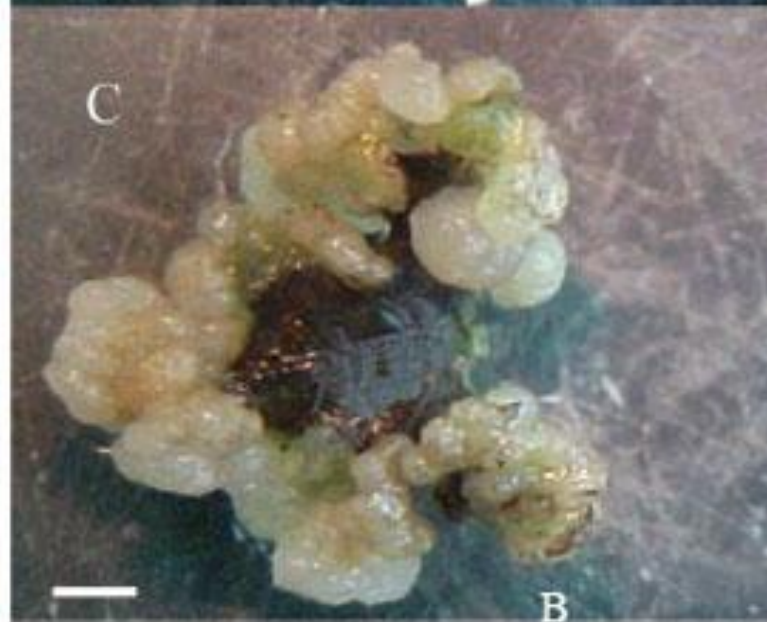
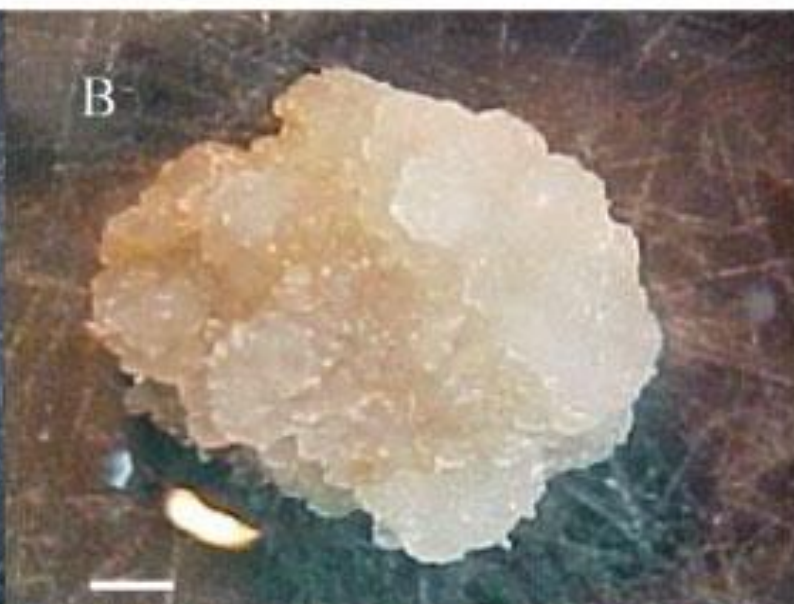
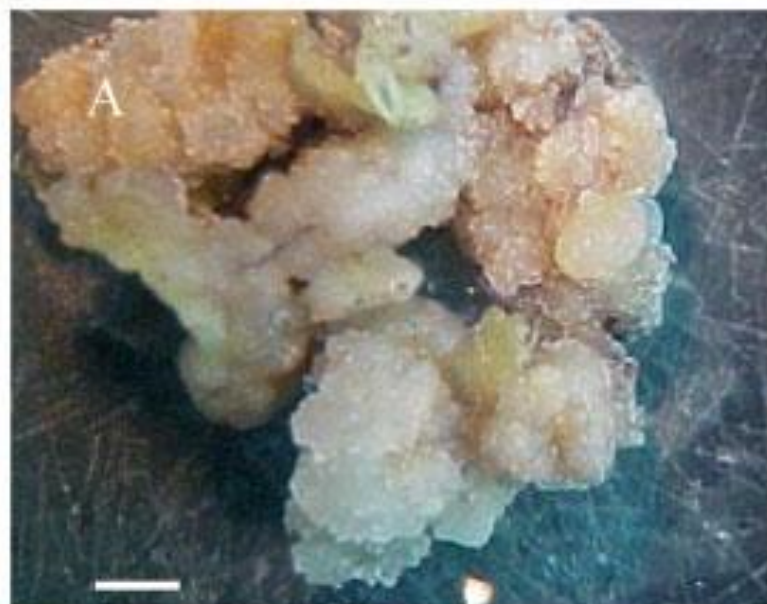
1 - Cultura de tecidos

- **Totipotência das células**
- **Variação somaclonal**
 - **Induzida pelas condições de cultura**
 - **Exemplos de uso são restritos (cultivar de tomate 'DNA 9', pimentão 'Bell sweet')**









Bars = 0.25 cm.





Figura 1. Desenvolvimento da parte aérea do porta-enxerto de macieira cultivar M.9 e cinco somaclones em substrato sem Al e com alumínio. Embrapa-CPACT, Pelotas, RS, 1999.

BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

- **Cultura de embriões**
 - Recuperação de plantas híbridas de cruzamentos incompatíveis (introgressão de genes exóticos)
- **Limpeza de virus**
 - Cultura de meristemas e microenxertia
- **Protoplastos**
 - Híbridos interespecíficos
 - Híbridos intergenéricos
 - Uso na engenharia genética
- **Obtenção de haplóides – cultura de anteras**

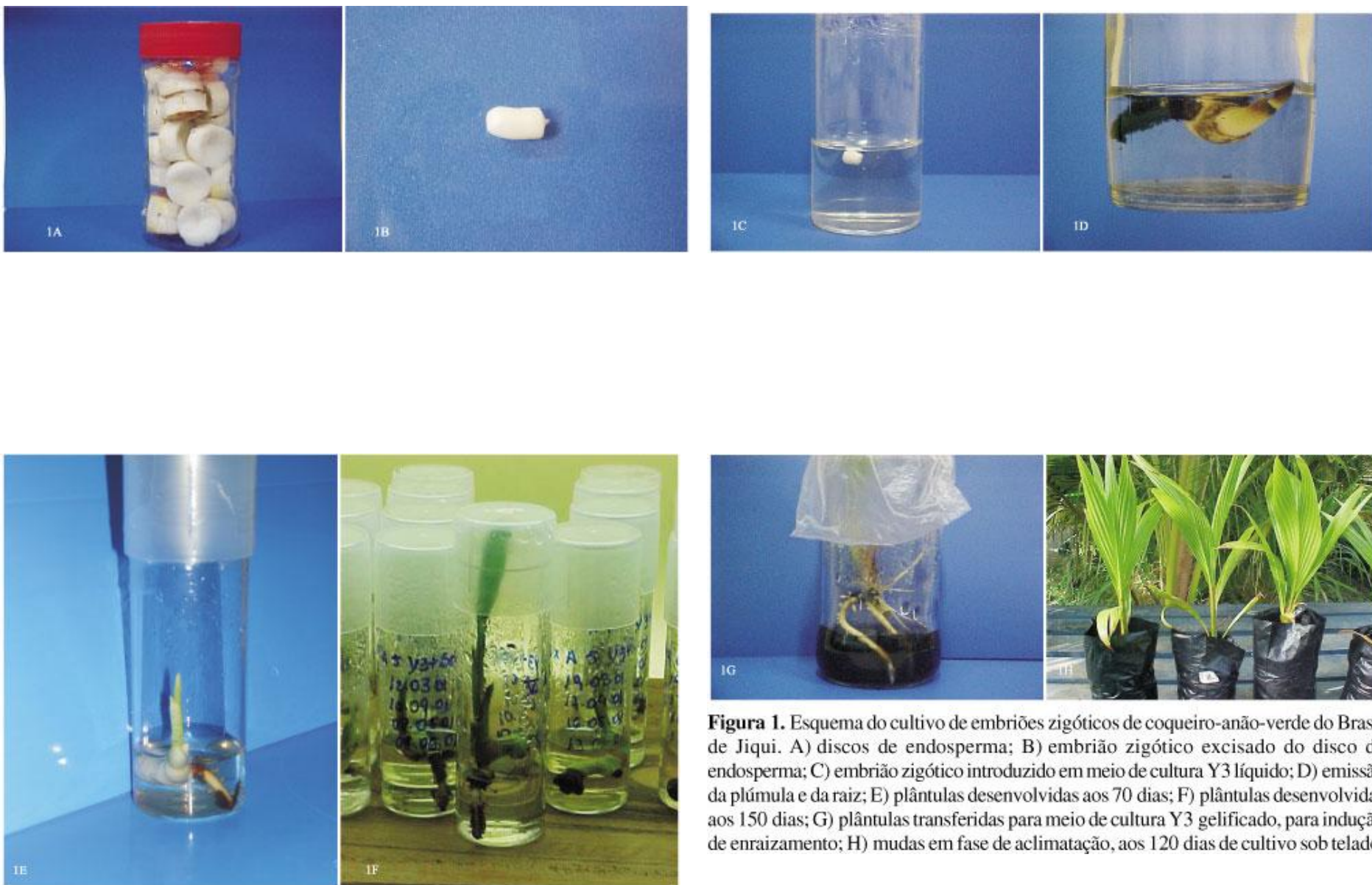


Figura 1. Esquema do cultivo de embriões zigóticos de coqueiro-anão-verde do Brasil de Jiqui. A) discos de endosperma; B) embrião zigótico excisado do disco de endosperma; C) embrião zigótico introduzido em meio de cultura Y3 líquido; D) emissão da plúmula e da raiz; E) plântulas desenvolvidas aos 70 dias; F) plântulas desenvolvidas aos 150 dias; G) plântulas transferidas para meio de cultura Y3 gelificado, para indução de enraizamento; H) mudas em fase de aclimação, aos 120 dias de cultivo sob telado.

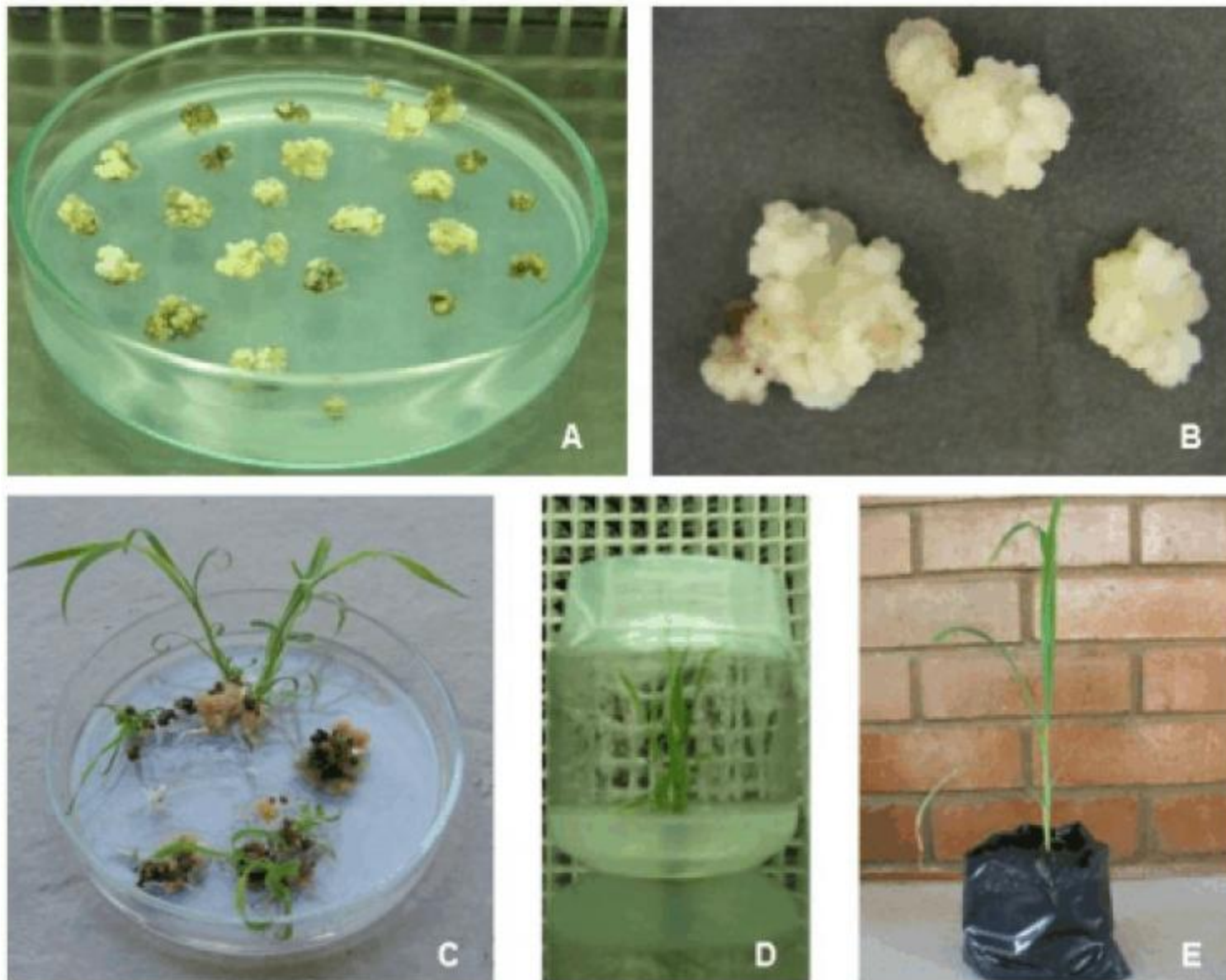
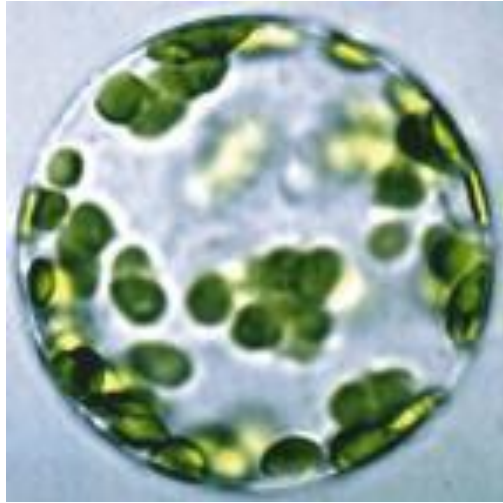
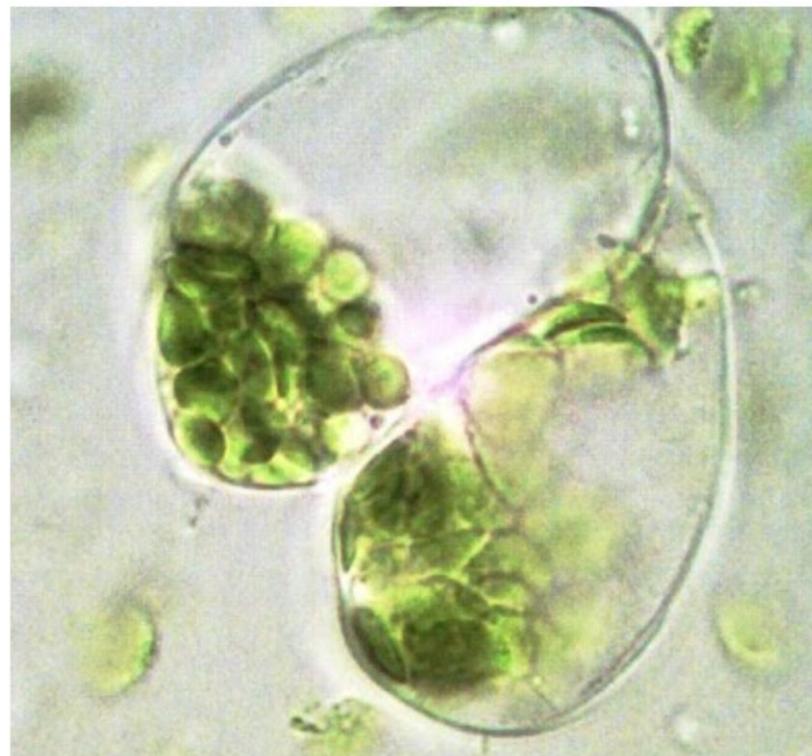
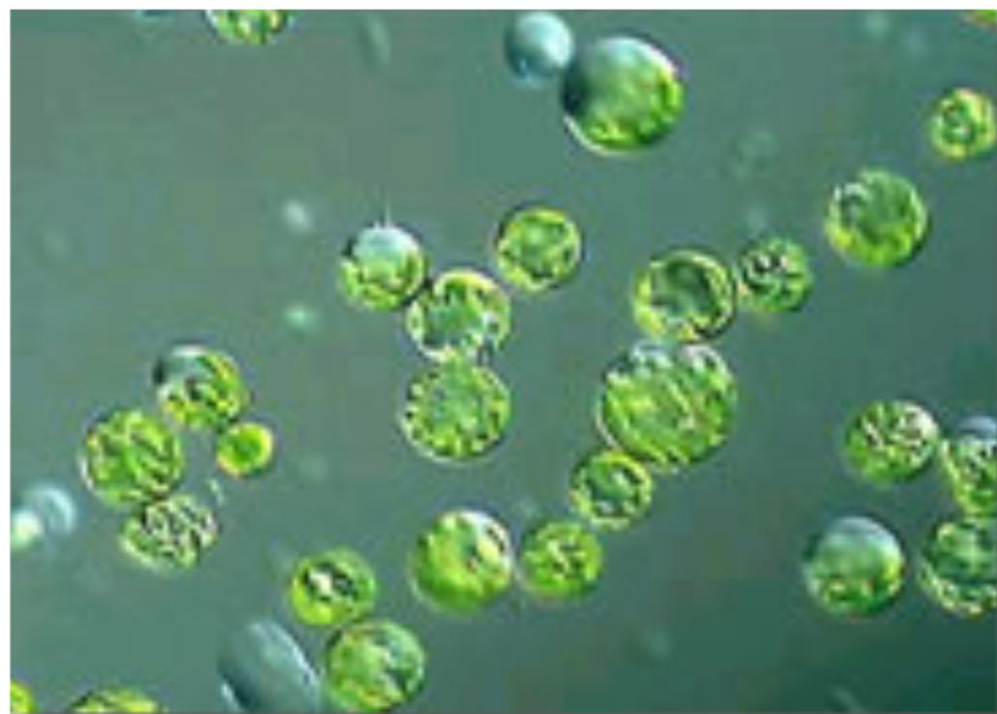


Figura 2. Regeneração de plantas por embriogênese somática, em híbrido de capim-elefante e milho (*P. purpureum* x *P. glaucum*). A e B, calos embriogênicos com seis semanas de cultivo em 1 mg L^{-1} de 2,4-D. C, brotos híbridos, após seis semanas de cultivo em meio MS sem reguladores de crescimento. D, brotos híbridos com raízes em meio MS sem reguladores de crescimento (quatro semanas). E, planta aclimatada após quatro semanas. Fotos de Marcelo de Oliveira Santos.







BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

- **Conservação de germoplasma**
 - Quando há dificuldade na conservação de sementes
 - Ápices caulinares, hastes, embriões, calos (Batata, Mandioca, alho, Batata doce)
- **Obtenção de transformantes via engenharia genética**
- **Melhoramento para maior capacidade de regeneração in vitro**

BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

Cultura de micrósporos

- Obtenção de novas linhagens acelerando programas
 - Linhagem A x Linhagem B
 - Híbrido F1
 - Florescimento seguido de cultura de micrósporos
 - População segregante de linhagens dihaplóides
 - 4 gerações

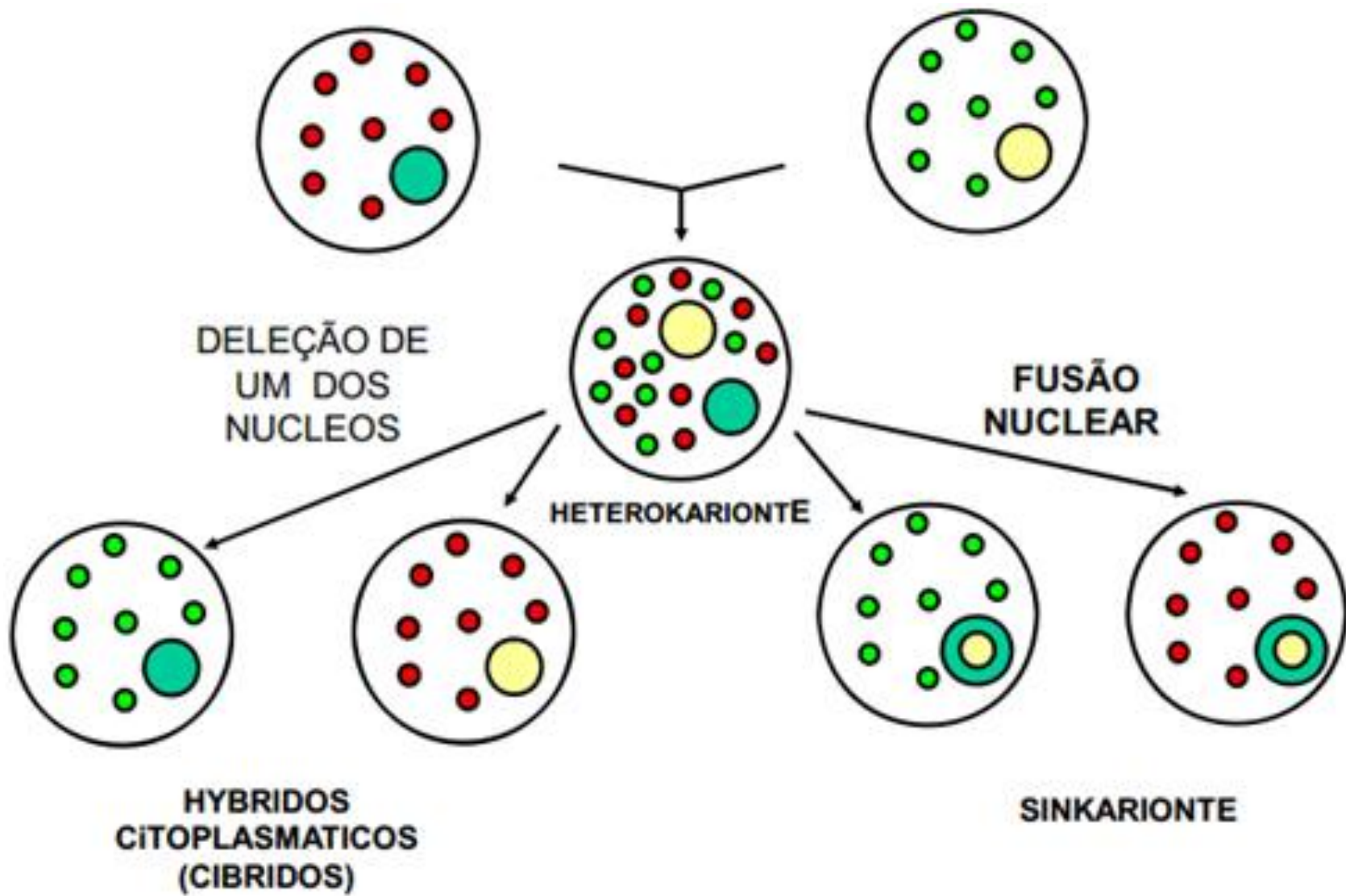
BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

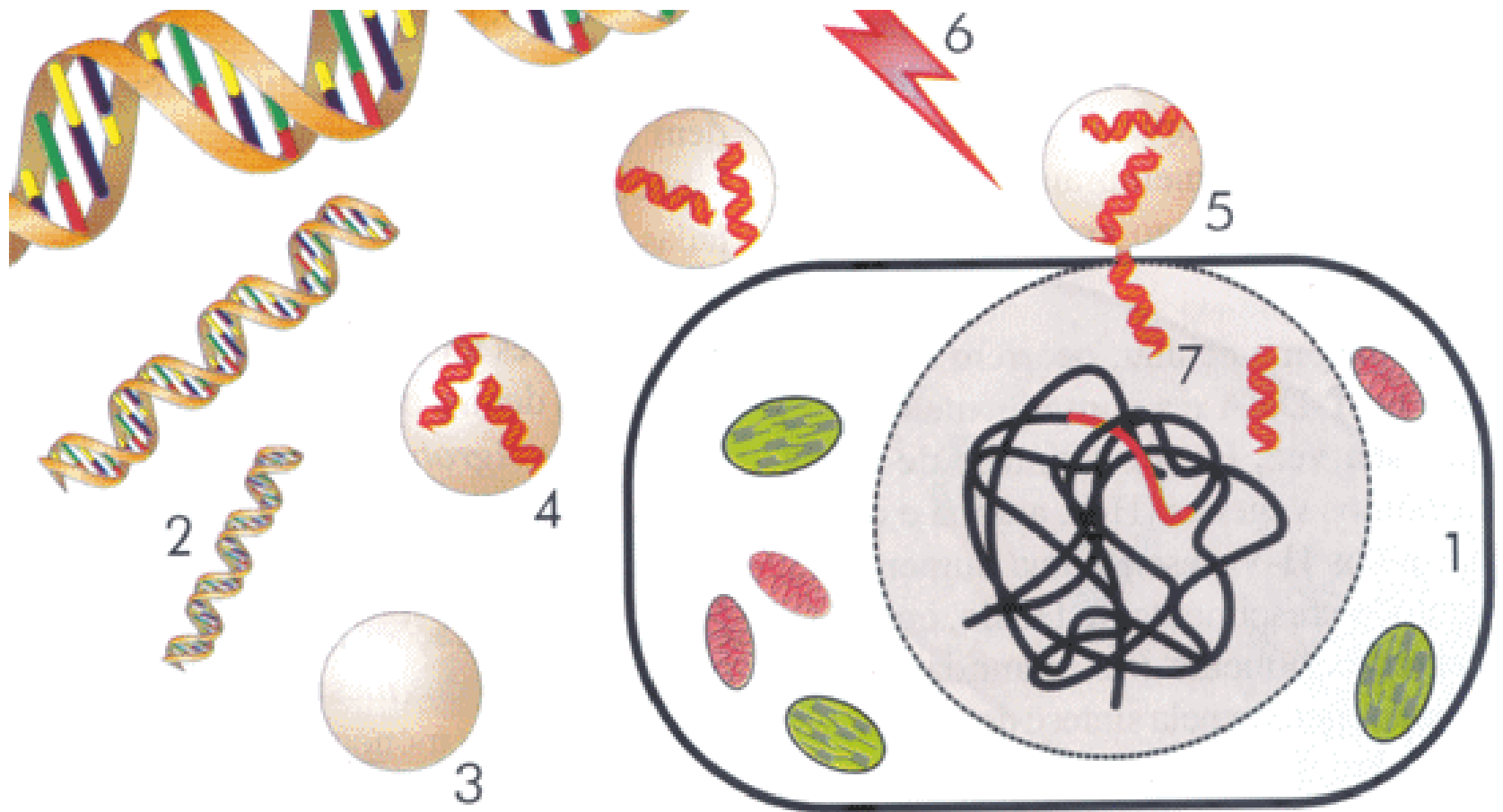
SSD com dihaplóides ou cultura de micrósporos

- Linhagem A x Linhagem B
- Híbrido F_1
- População F_2 (autofecundação de grande número de indivíduos)
- F_3 a F_4 (autofecundação de grande número de indivíduos)
- F_5 – retirada de linhagens
- Avaliação e seleção de linhagens superiores
- 6 gerações

BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

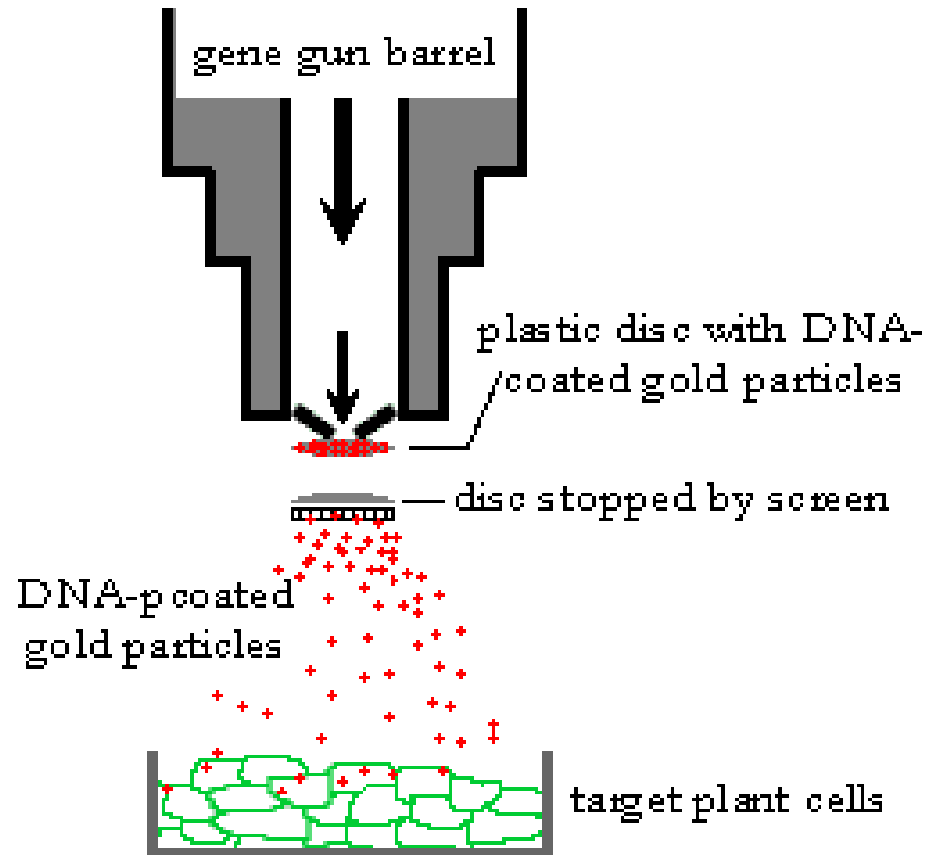
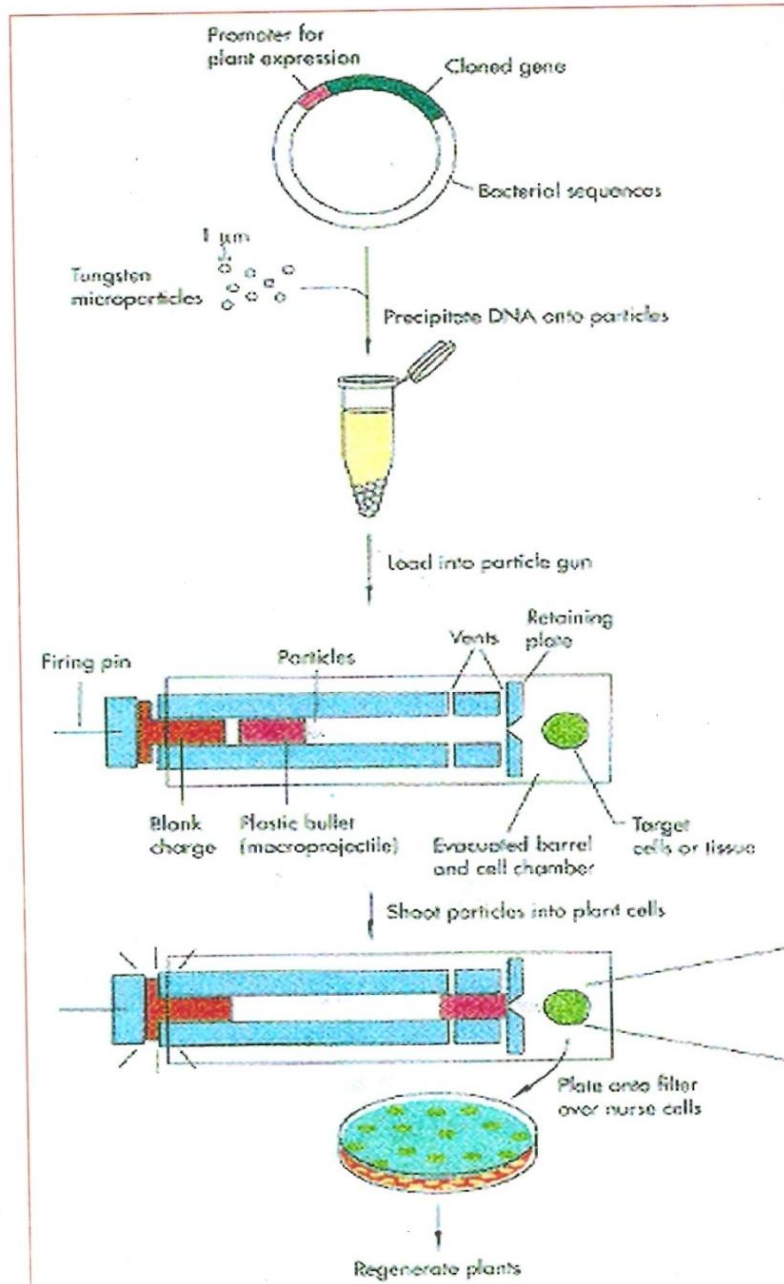
- **2 – Transformação genética de plantas**
 - **Hibridação somática**
 - **Fusão de protoplastos, misturando genoma nuclear e citoplasmático**
 - **Cibridação**
 - **Hibridação apenas de citoplasma**
- **Métodos diretos**
 - **PEG**
 - **Eletroporação**
 - **Biobalística**





Eletroporação: Em uma cubeta, células vegetais sem a parede celular (1) são colocadas em contato com o DNA exógeno (2) e lipídios polares tipo lipofectina (3). Os lipídios, ao formarem micelas, engolfam moléculas de DNA (4). Essas micelas formam pontes com a membrana celular (5). A aplicação do choque elétrico leva o DNA a atravessar a ponte micela-membrana. Uma vez dentro da célula, o DNA exógeno pode se instalar no núcleo, e eventualmente integrar-se ao DNA nuclear da célula vegetal, por processos dependentes unicamente da bioquímica da célula. FONTE: Zanettini, Maria Helena e Pasquali, Giancarlo (2004), “Plantas Transgênicas”, in Mir, Luis (org.), Genômica. São Paulo: Atheneu, 721-736.

TRANSFORMAÇÃO POR BIOLÍSTICA ("GENE GUN")

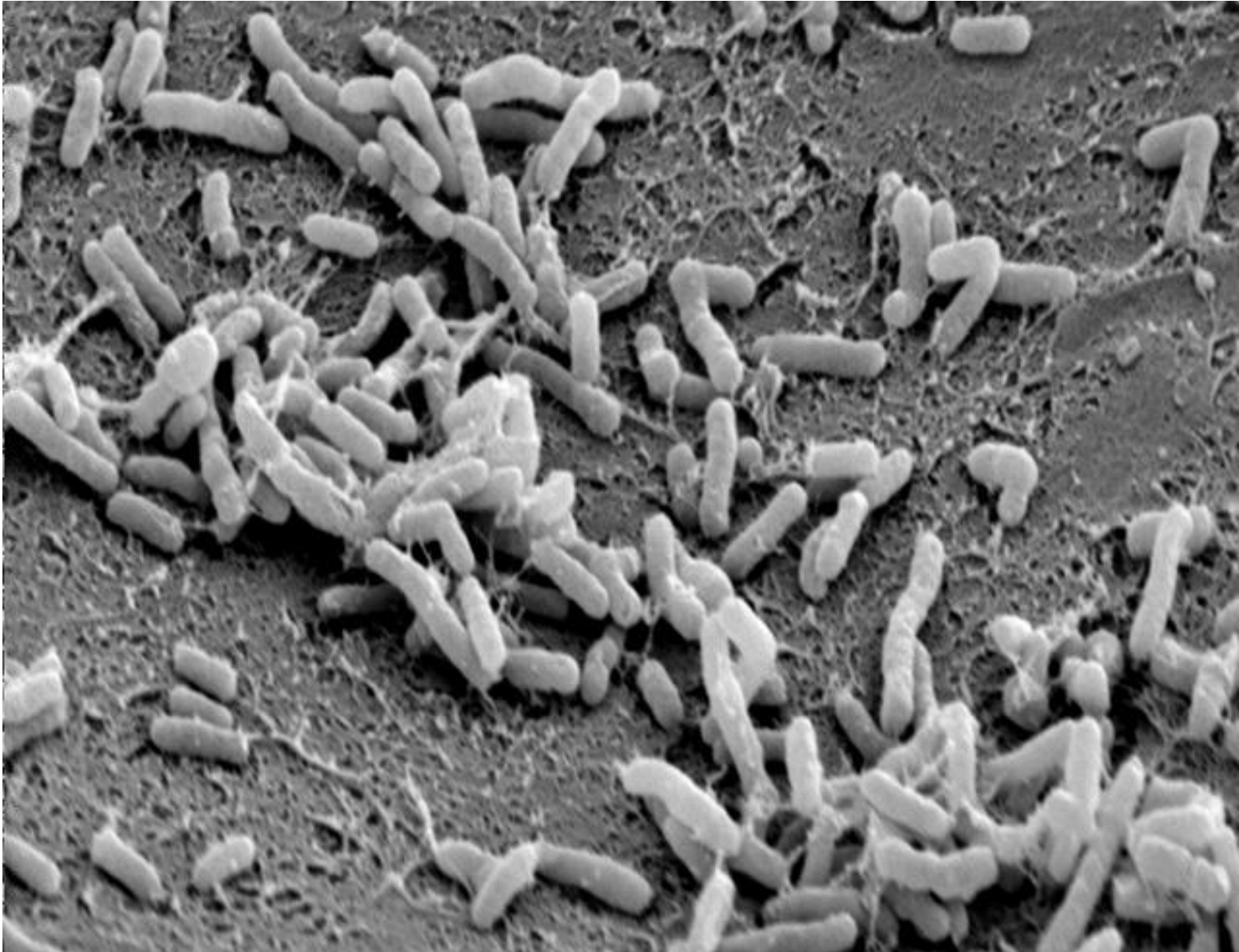


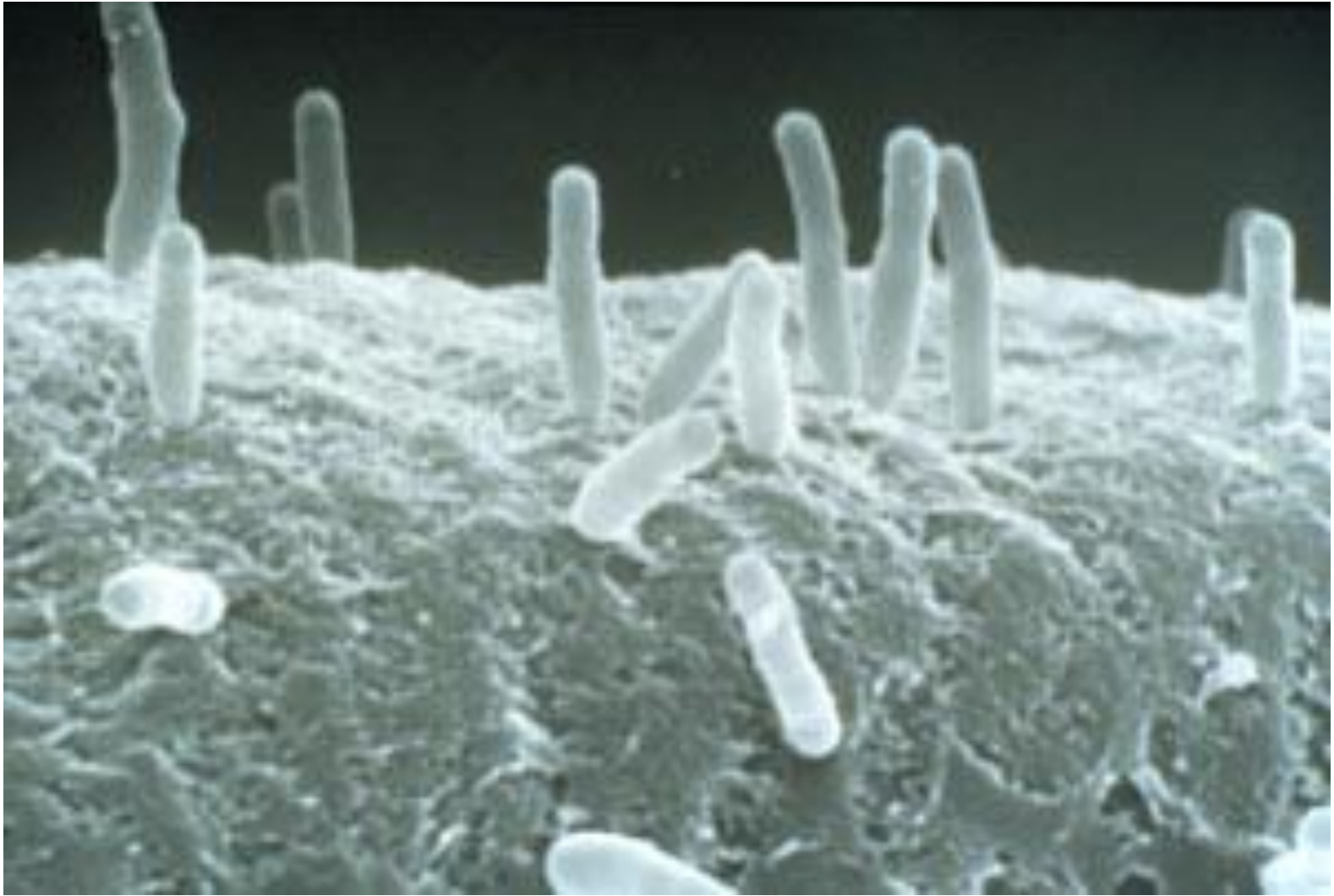


BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

- Métodos indiretos
 - *Agrobacterium tumefaciens*
 - *Agrobacterium rhizogenes*

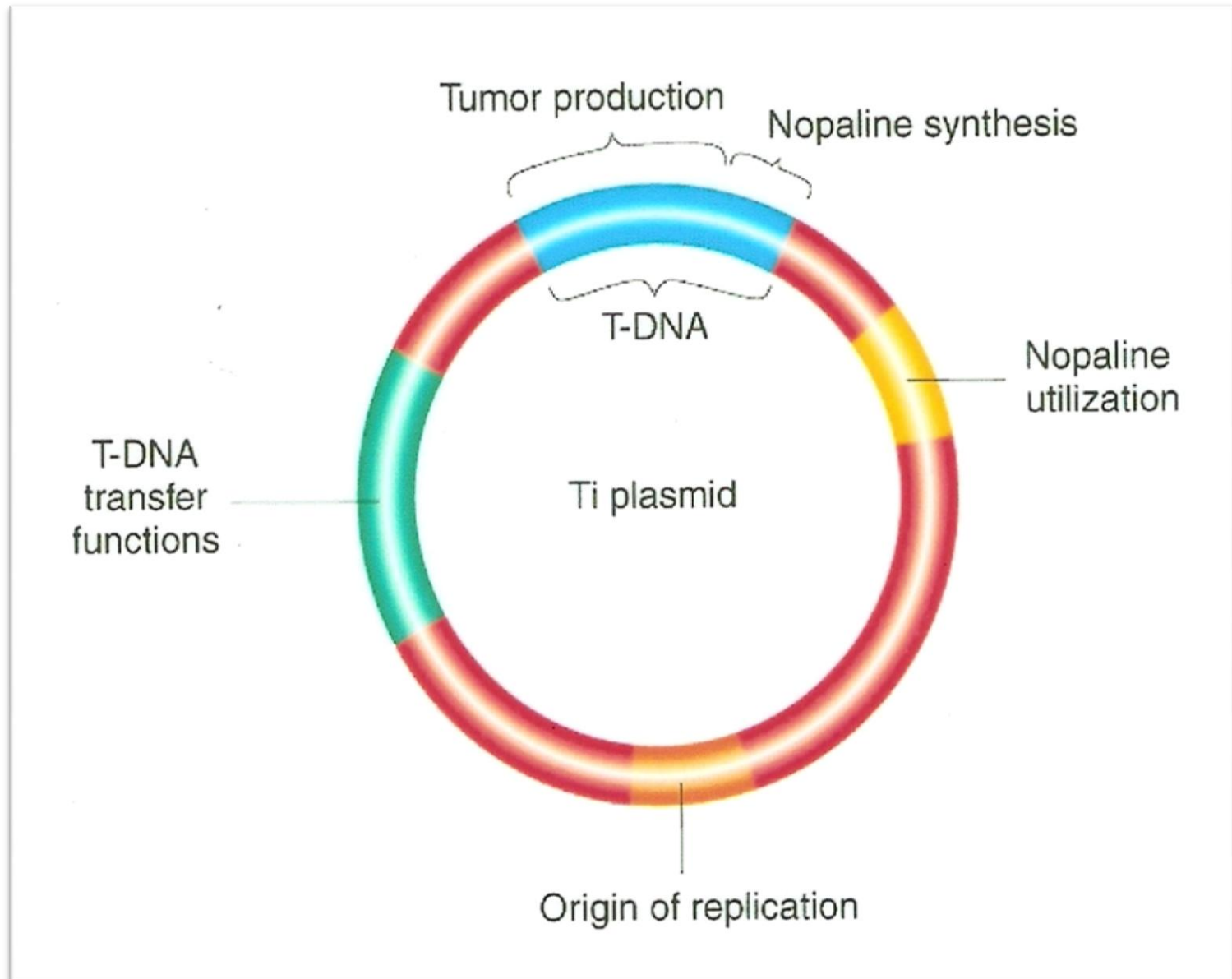
Agrobacterium tumefaciens



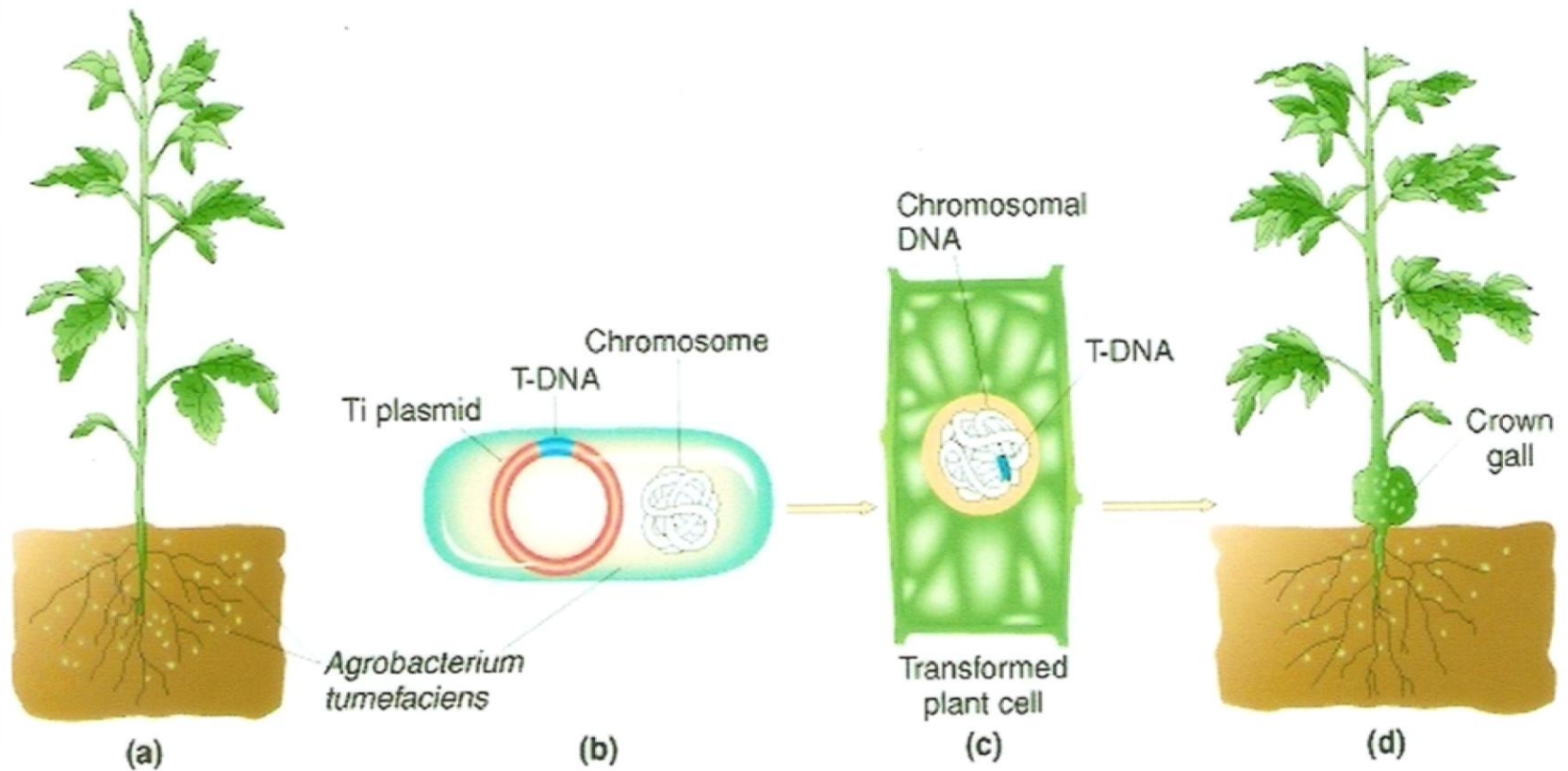




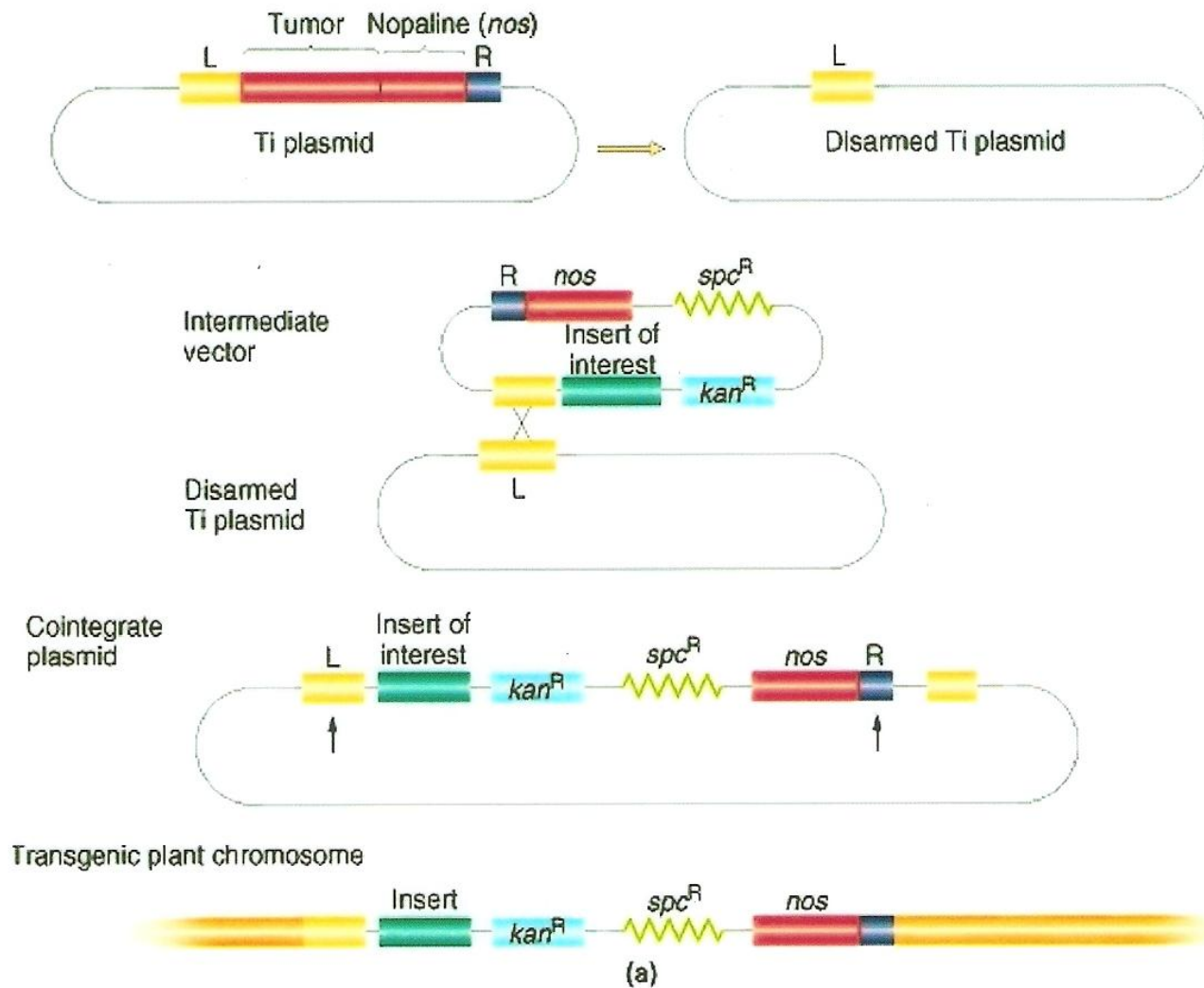
PLASMÍDEO Ti DE Agrobacterium tumefaciens

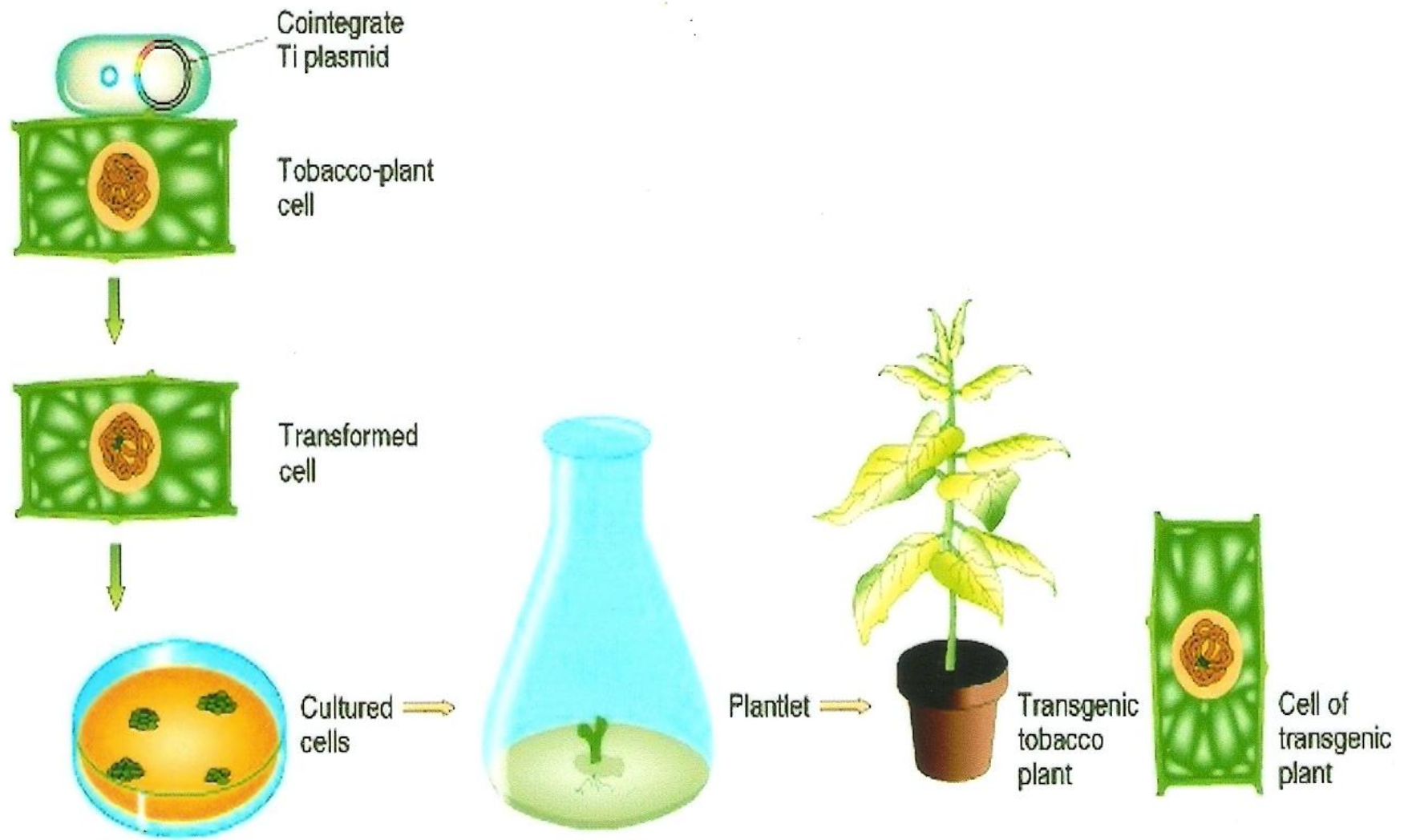


PROCESSO DE INFECÇÃO POR *Agrobacterium tumefaciens*



TRANSFORMAÇÃO POR *Agrobacterium tumefaciens*





(b)

BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

- **Exemplos**

- **Cultivares resistentes à doenças e pragas**

- **Maior eficiência fotossintética**

- **Fixadores de N em não leguminosas**

- **Melhoramento da qualidade nutricional**

Crescimento acelerado

O eucalipto transgênico ocupa menos tempo a terra e se torna mais rentável para todo o segmento de papel e celulose convencional



TEMPO DE MATURAÇÃO

A inserção de um novo gene reduz o tempo entre o plantio e a colheita



PRODUÇÃO DE CELULOSE

O transgênico produz 20% mais celulose porque o tronco é mais largo que o tradicional

TRANSGÊNICO



5,5
anos

54
m³/ha

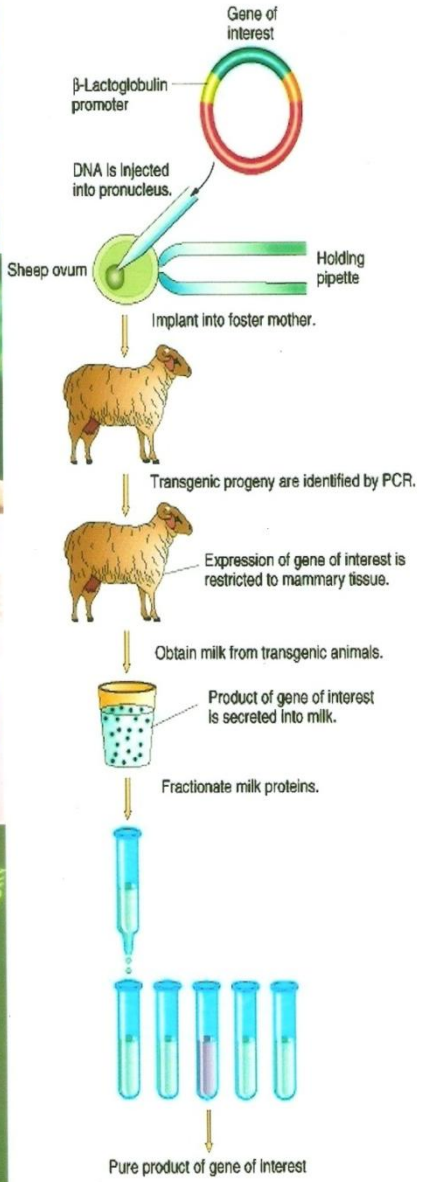
CONVENCIONAL



7
anos

45
m³/ha

Exemplos de transgênicos



Tomate longa vida

- Primeira cultura transgênica;
- Comercializado desde 1994;
- Gene “flavr savr” (Calgene);
- Inibição da produção de etileno;
- Fruto mais resistente à murcha, impacto e amadurecimento;
- Dura 40 dias fora da geladeira.



Milho resistente a herbicidas



Soja resistente a herbicida



Milho resistente à lagarta do cartucho



Arroz com maior conteúdo de ferro



- Gene da ferritina da soja;
- Quantidade de ferro três vezes maior que o convencional

Arroz com genes do milho

- Genes da fotossíntese do milho;
- Até 35% mais produtivo;
- 30% mais extração de gás carbônico.

Gene “cab” em eucalipto

- Retirado da ervilha;
- Expande espaço interno das células;
- Maior número de cloroplastos;

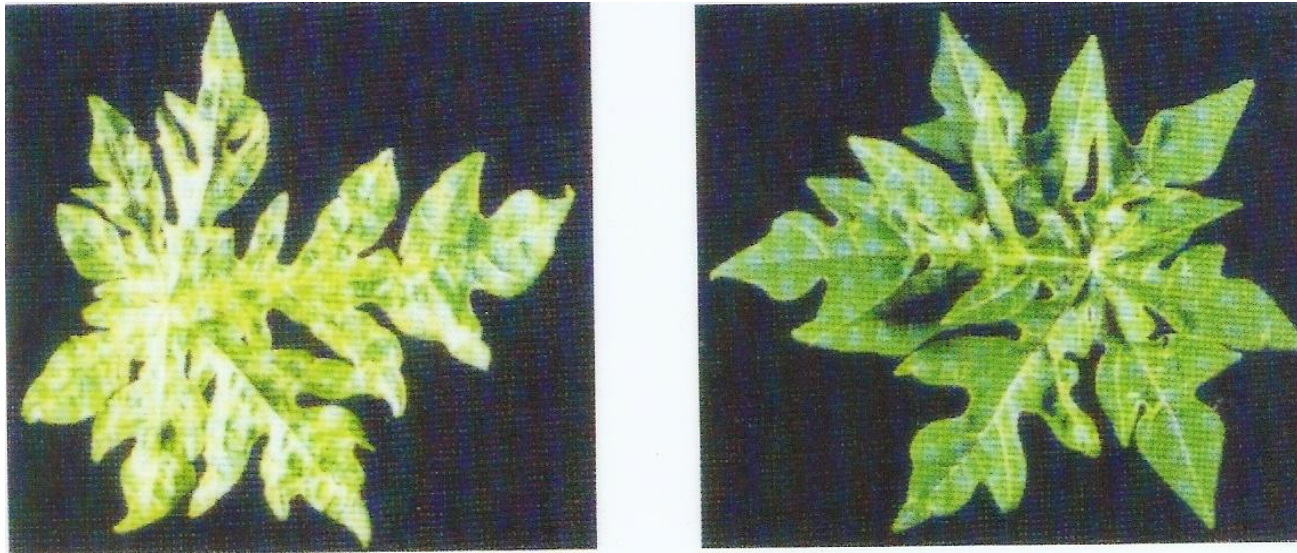
Canola com óleo de melhor qualidade

- Gene do mangostão
- 55 a 68% mais gorduras benéficas

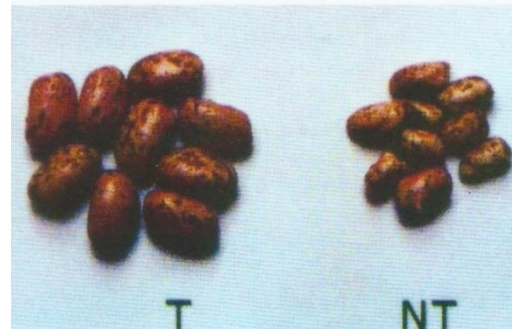
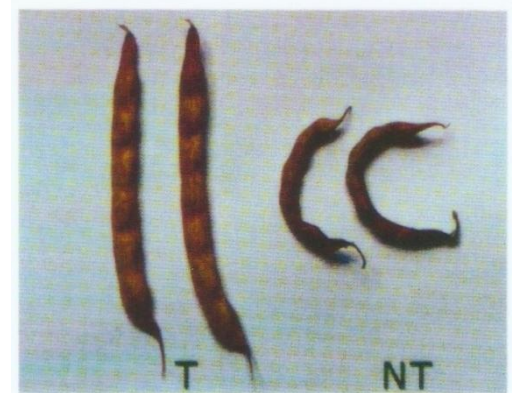
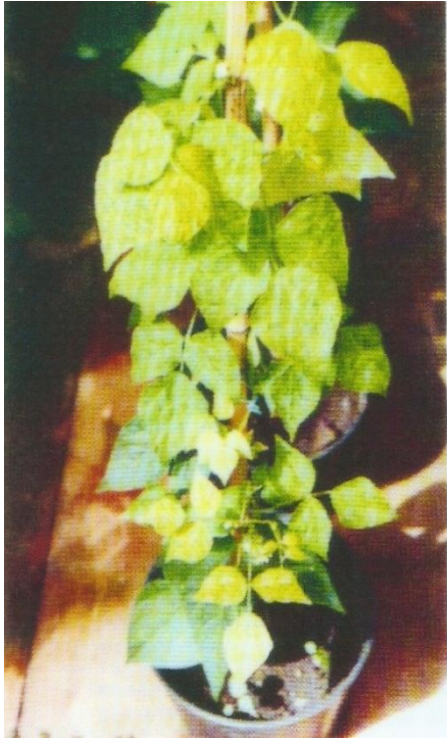
Batatinha resistente a virus



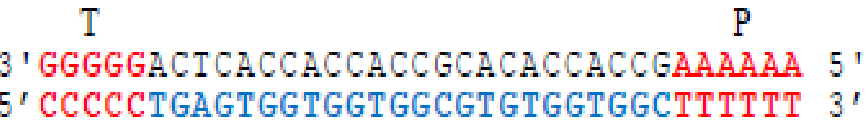
Mamão resistente a vírus




Feijão resistente ao mosaico dourado



Gene da capa proteica do vírus (normal).



Multiplicação do DNA → 

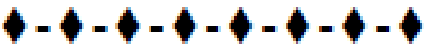
Transcrição → 

mRNA da proteína da capa proteica do vírus (normal)



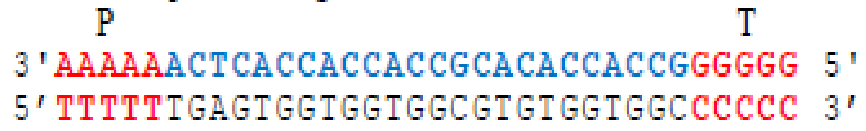
Tradução → 

Proteína da capa proteica do vírus



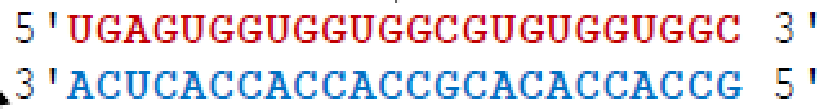
Encapsulamento do DNA e destruição da célula vegetal

Gene da capa proteica do vírus, com promotor e terminador invertidos, colocado na planta transgênica.





Transcrição → 

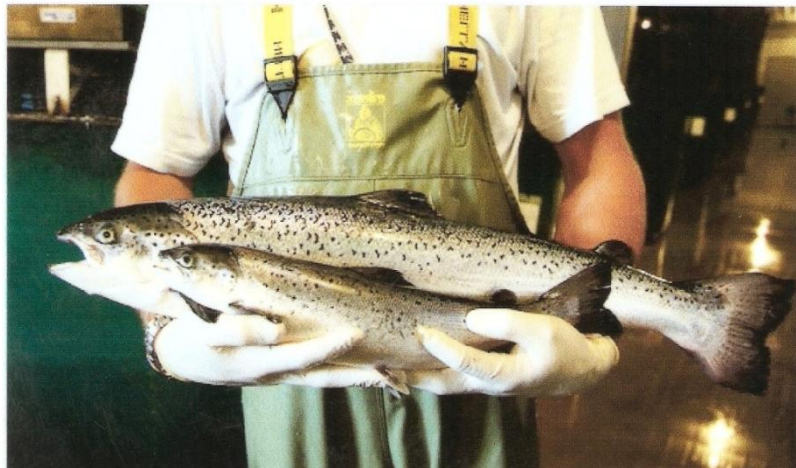
mRNA da fita complementar do gene da capa proteica do vírus (produzido na planta transgênica)



Pareamento do mRNA normal (transcrito do gene do vírus) com o mRNA da fita complementar do gene da capa proteica do vírus


Não haverá tradução, não haverá capa proteica e não haverá multiplicação do vírus na planta.


Planta resistente ao vírus.



PROTEÍNA Bt, EM PARTES POR BILHÃO (ppb*), EM PLANTA DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADA (EVENTO Bt 176)

	<i>ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO</i>			
<i>PARTE DA PLANTA</i>	<i>PLÂNTULA</i>	<i>FLORES-CIMENTO</i>	<i>MATURAÇÃO</i>	<i>SENESCÊNCIA</i>
FOLHAS	865	1440	460	126
RAÍZES	< 8	< 8	< 8	< 8
PÓLEN	-----	1835	-----	-----
GRÃOS	-----	-----	< 5	< 5

**** - 1 ppb = 1 g por tonelada***

MILHO PARA SILAGEM

- *SÃO UTILIZADAS PLANTAS MADURAS;*
- *4,7 g/ha DA PROTEÍNA Bt.*

ANIMAIS DE LABORATÓRIO

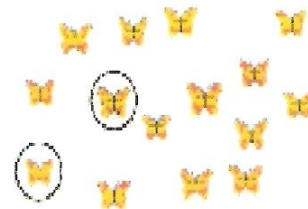
- *5 g DE PROTEÍNA Bt POR kg DE PESO VIVO;*
- *SER HUMANO COM 60 kg DE PESO PODE INGERIR 40 t DE GRÃOS DE MILHO BT;*
- *VACAS PODEM INGERIR 1,5 T DE MILHO VERDE BT*

Bt RESISTANCE



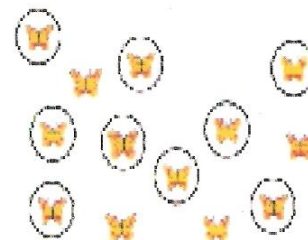
Some resistance

Introduction of Bt corn

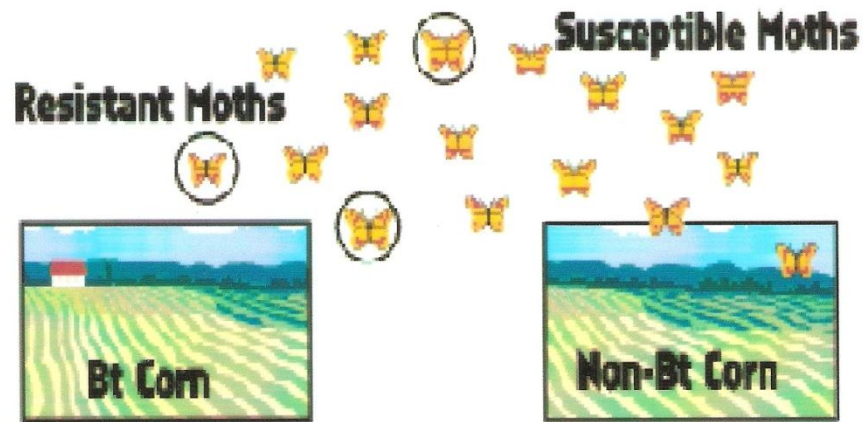


More resistance

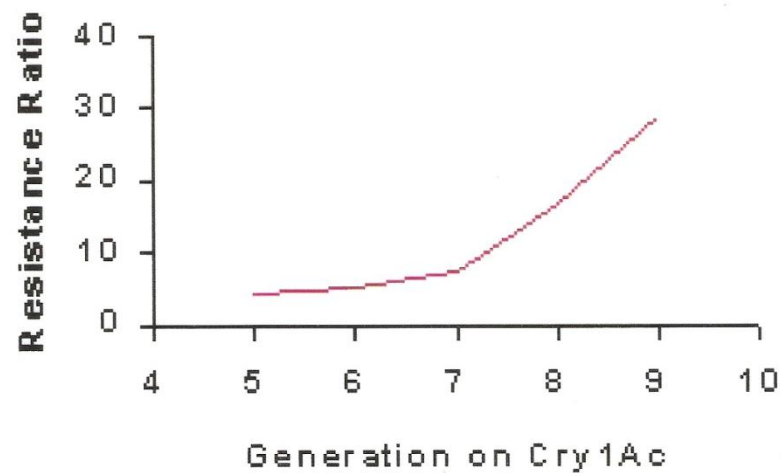
Prevalent use of Bt corn



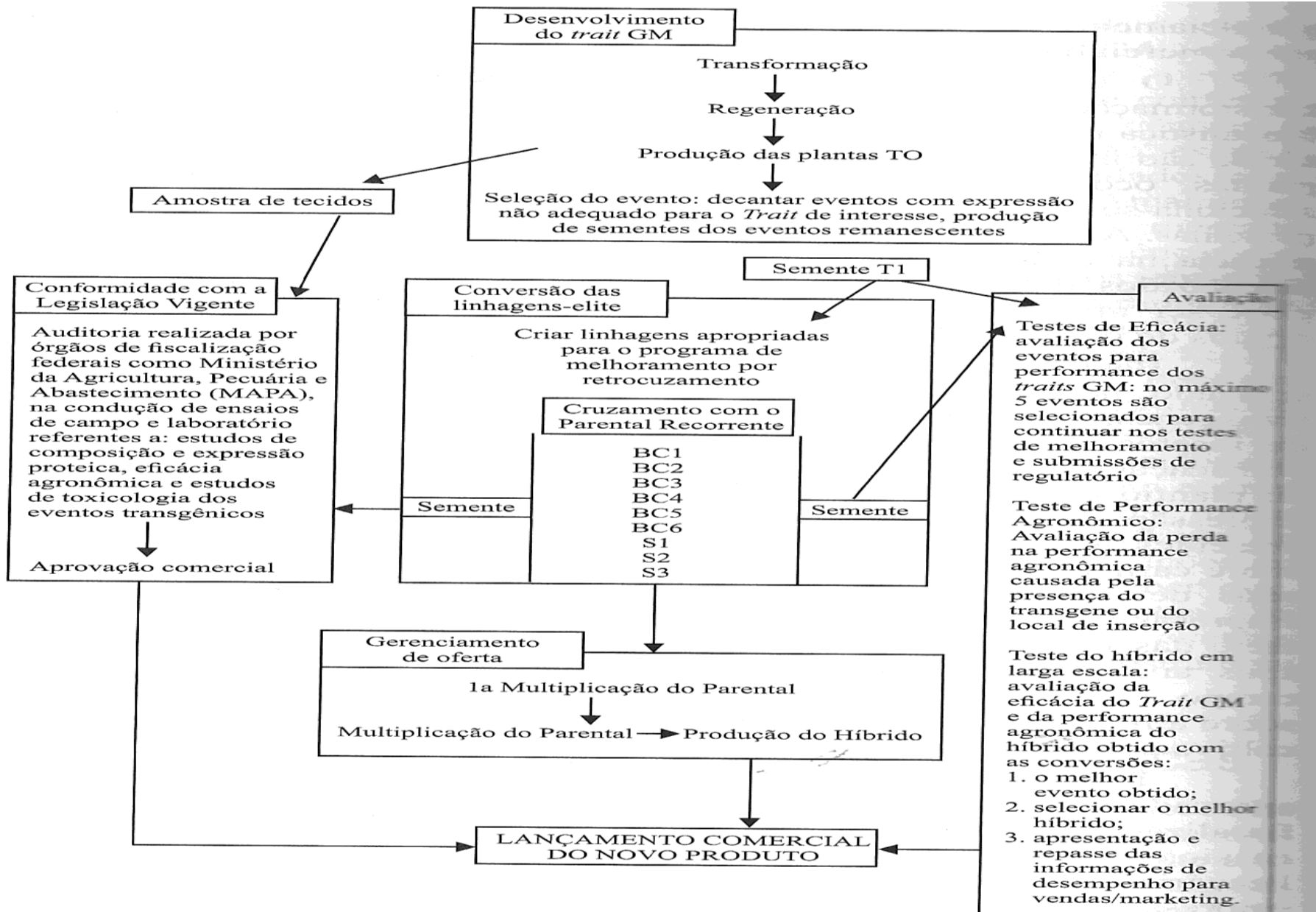
Resistance at
high frequency



**Bt Resistance in Corn
Borer**



Processo geral para o desenvolvimento de sementes transgênicas de milho no Brasil





BIOTECNOLOGIA NO MELHORAMENTO

- **3 – Poliploidia**

- **Banana**

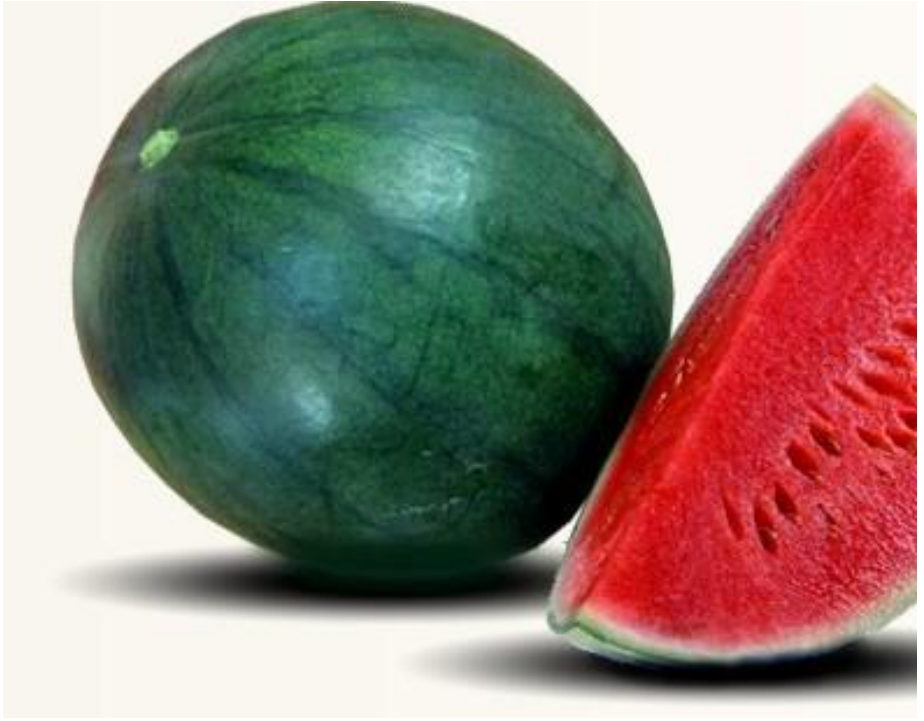
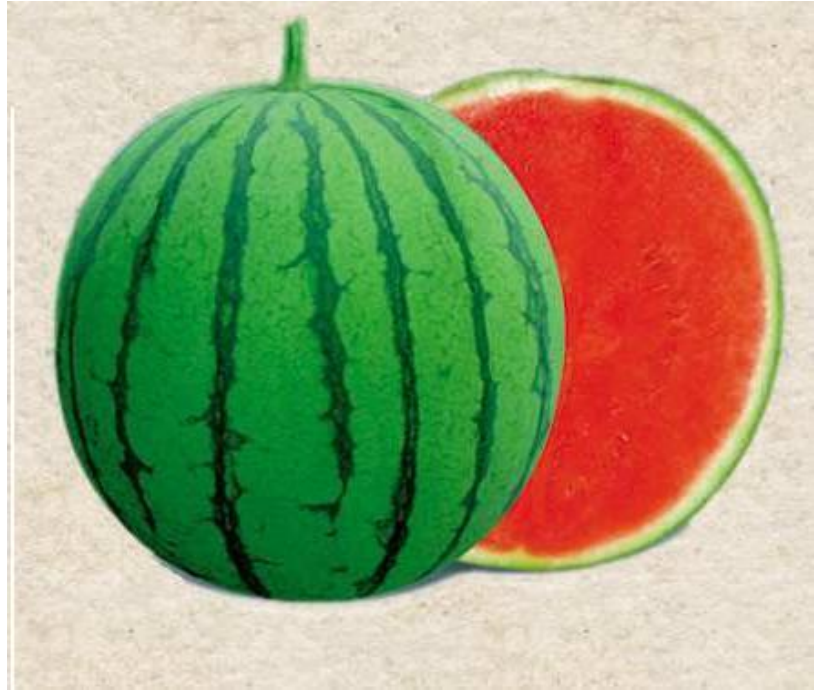
- **Melancia sem semente**

- **Trigo**

- **Triticale**

- **Braquiária**

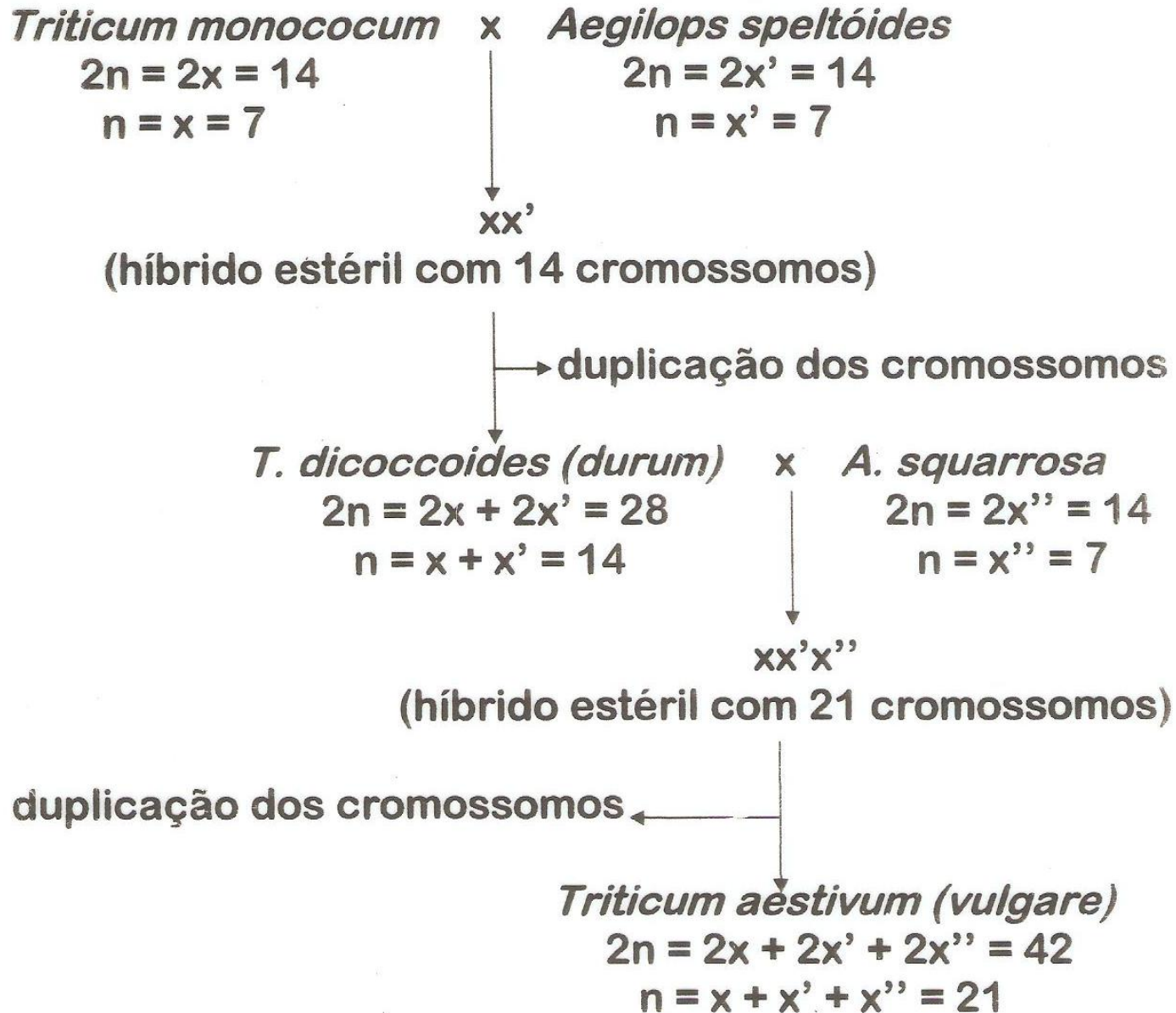








EVOLUÇÃO DO TRIGO CULTIVADO



OBTENÇÃO DO TRITICALE

