

• Capítulo 3 •

## Melhoramento Genético e Biotecnologia

*Paulo Ricardo Dias de Oliveira*

*Ivan Dagoberto Faoro*

*Vera Quecini*

- 41) Quantas espécies de pereira existem?
- 42) Todas as espécies de pereira produzem frutos comerciais?
- 43) Quais são as espécies de pereira comercialmente importantes e como são seus frutos?
- 44) Existem somente os tipos de pereira europeu e asiático?
- 45) A partenocarpia ocorre em pereira?
- 46) Quais são as principais diferenças entre os frutos desenvolvidos partenocarpicamente e os polinizados?
- 47) Em que consiste a macho-esterilidade observada em pereira?
- 48) Existem variedades de pereira autoférteis?
- 49) É importante que as cultivares de pereira produzam pólen?
- 50) Todas as cultivares de pereira apresentam a mesma produção de grãos de pólen?
- 51) Quais são os métodos empregados para o melhoramento genético da pereira?
- 52) Com qual finalidade a seleção massal é utilizada no melhoramento genético da pereira?
- 53) Em que consistem a hibridação e a seleção utilizadas no melhoramento genético da pereira?
- 54) Quais são os objetivos do melhoramento genético da pera?
- 55) Como são feitos os cruzamentos controlados no melhoramento genético?

56) Além da hibridação sexual (cruzamentos), existem outros métodos de introduzir variabilidade genética na pera?

57) Em que consiste a indução de mutação?

58) Como as alterações no nível de ploidia podem ser induzidas?

59) Como a engenharia genética pode gerar variabilidade?

60) O que são mutações somáticas?

61) Que tipos de mutações somáticas são mais fáceis de identificar?

62) Assim como em outras espécies frutíferas, as mutações somáticas são observadas nas pereiras?

63) Por que as cultivares devem ser avaliadas em vários locais?

64) Uma cultivar de pereira recentemente lançada em outro país pode ter sucesso se plantada no Brasil?

65) Quanto tempo é necessário para o desenvolvimento de uma nova cultivar de pera?

66) Onde as equipes de melhoramento genético encontram características de interesse no desenvolvimento de variedades melhoradas?

67) Quais as principais técnicas de cultura de tecidos aplicadas à cultura de pera?

68) O que são marcadores genéticos?

69) Qual é o uso dos marcadores moleculares no melhoramento da pereira?

70) As sementes obtidas de um fruto de pera, colhido em pomar comercial, podem ser usadas para formar um pomar?

...

## 41) Quantas espécies de pereira existem?

São conhecidas 23 espécies de *Pyrus*. Entre outras, a título de exemplo, podem ser citadas: *P. communis*, *P. amygdaliformis*, *P. elaeagnifolia*, *P. betulaefolia*, *P. faurei*, *P. calleryana*, *P. caucasia*, *P.*

*nivalis*, *P. ordata*, *P. pashia*, *P. salicifolia* e *P. syriaca*.

•••

42) Todas as espécies de pereira produzem frutos comerciais?

Não. Há espécies que produzem frutos muito pequenos, do tamanho de uma noz, tais como *P. calleryana* e *P. betulaefolia*, que são utilizadas como porta-enxertos.

•••

43) Quais são as espécies de pereira comercialmente importantes e como são seus frutos?

No comércio internacional, são importantes dois grupos ou tipos de pereira:

- Pereiras-europeias (*P. communis*): seus frutos têm formato piriforme e são aromáticos; a casca pode ser lisa ou com *russeting* (recobrimento parcial ou total do fruto, de coloração marrom e superfície áspera) e de cor verde-amarelada, avermelhada ou até amarronzada; a polpa é succulenta, macia e doce quando madura. São exemplos as cultivares William's (= Bartlett), Packham's Triumph, Abate Fetel, Max Red Bartlett, Beurre d'Anjou (= Anjou) e Rocha.
- Pereiras-asiáticas.
- Pereiras-japonesas (*P. pyrifolia* var. *culta*): seus frutos são arredondados; a casca é mais grosseira e de coloração que varia de verde-amarelada a marrom; a polpa é macia, doce e

muito succulenta. São exemplos as cvs. Hosui, Kosui, Nijisseiki (= Século XX) e Atago.

- Pereiras-chinesas (*P. ussuriensis* e *P. bretschneideri*): seus frutos são ovalados; a casca é esverdeada e geralmente apresenta *russeting* na região do pedicelo; a polpa é crocante, medianamente doce e succulenta, podendo apresentar grãos arenosos na região do “caroço”. São exemplos as cultivares Yali e Tsuli.

•••

44) Existem somente os tipos de pereira europeu e asiático?

Não. Também há as cultivares híbridas, obtidas do cruzamento entre indivíduos pertencentes a grupos ou tipos diferentes, como europeias x japonesas e europeias x chinesas. São exemplos as cultivares Kieffer e Le Conte. Ainda existem variedades oriundas de polinização aberta e propagadas pelos produtores, denominadas de “peras d’água”.

•••

45) A partenocarpia ocorre em pereira?

Sim, a partenocarpia é comumente observada em pereira. Esse termo se refere ao desenvolvimento do fruto sem polinização, sem fertilização do óvulo e, conseqüentemente, sem produção de sementes. No entanto, a longevidade do óvulo é um fator importante para garantir o crescimento de frutos partenocárpicos.

•••

46) Quais são as principais diferenças entre os frutos desenvolvidos partenocarpicamente e os polinizados?



Os frutos partenocárpicos geralmente têm menor tamanho do que aqueles resultantes de polinização normal e com sementes, já que o seu peso é proporcional ao número de sementes viáveis. Na cultivar Nijisseiki, foi observado que maior número de sementes corresponde a maior peso do fruto; assim, se tiver quatro sementes, o peso médio do fruto será de 140 g, e, com oito sementes, de 200 g. Mas, algumas vezes, pode não ocorrer diferença significativa na qualidade comercial entre os frutos com e sem sementes, como foi observado na cultivar William's (= Bartlett).

Em alguns casos, a inexistência de sementes proporciona frutos de formato mais piriforme e mais aptos ao enlatamento. Já a má polinização em peras asiáticas pode resultar na formação de frutos assimétricos.

•••

47) Em que consiste a macho-esterilidade observada em pereira?

Em pereira, a macho-esterilidade é caracterizada pela ausência parcial ou total dos grãos de pólen nos estigmas, sendo que há evidência da ocorrência de macho-esterilidade citoplasmática. Aparentemente, não há correlação entre macho-esterilidade e produção de frutos e sementes. São exemplos de macho-estéreis as cultivares Magness e Moonglow.

Na macho-esterilidade citoplasmática, os citoplasmas S (macho-estéril) e N (normal) são influenciados pela ação de dois genes restauradores dominantes, Rf-1 e Rf-2, com dupla epistasia recessiva. Também tem sido observada a macho-esterilidade genética, condicionada pelo genótipo “ms ms”, além da possibilidade da macho-esterilidade genético-citoplasmática.

•••

48) Existem variedades de pereira autoférteis?

Sim, mas são raras. Um exemplo é a pereira-japonesa cultivar Osanijisseiki. Ela foi originada da cultivar Nijisseiki, que sofreu uma mutação do alelo  $S_4$ , gerando o mutante ‘Osanijisseiki’ com alelos  $S_2S_4^{sm}$ . A mutação do gene  $S_4^{sm}$  proporcionou a redução da produção de uma enzima ribonuclease, no estilete, permitindo a germinação do grão de pólen e o desenvolvimento normal do tubo polínico.

•••

49) É importante que as cultivares de pereira produzam pólen?

A produção de pólen está ligada à polinização, que é a transferência de grãos de pólen das anteras de uma flor para o estigma da mesma flor ou de outra flor. Quando a polinização ocorre dentro da mesma cultivar, chama-se de “autopolinização”, e, quando a polinização é entre duas cultivares, chama-se de “polinização cruzada”.

Assim, a importância da produção de pólen depende do uso que se faça da cultivar. Se a cultivar for utilizada para produção de frutos, a quantidade de pólen produzida não terá importância; e pode até não produzir, sendo, então, macho-estéril. Mas, se a cultivar for utilizada como polinizadora, ela deverá produzir grande quantidade de pólen.

•••

50) Todas as cultivares de pereira apresentam a mesma produção de grãos de pólen?

Não. Há uma variação entre cultivares na produção de grãos de pólen por antera e por flor. Por exemplo, a cultivar Magness é macho-estéril e, por isso, não produz pólen. Já a cultivar Nijisseiki produz, em média, 3.050 grãos por antera e 78.385 grãos por flor, enquanto a cultivar Hosui produz 6.350 grãos por antera e 137.795 grãos por flor.

•••

51) Quais são os métodos empregados para o

## melhoramento genético da pereira?

Os principais métodos utilizados são a seleção massal e a hibridação e seleção.

•••

### 52) Com qual finalidade a seleção massal é utilizada no melhoramento genético da pereira?

A seleção massal é utilizada principalmente em plantas recém-domesticadas ou para gerar variabilidade. As plantas que exibem características de interesse são selecionadas, submetidas a cruzamentos controlados entre si e as sementes são coletadas em conjunto (*bulk*). A seleção para as características de interesse ocorre nos indivíduos da próxima geração, derivados das sementes coletadas.

•••

### 53) Em que consistem a hibridação e a seleção utilizadas no melhoramento genético da pereira?

A hibridação e a seleção são tradicionalmente utilizadas em programas de melhoramento convencional. Nele, as progênie de cada cruzamento controlado são avaliadas separadamente para as características de interesse. Assim, num cruzamento para a obtenção de resistência a uma determinada doença, os indivíduos da progênie que exibam a desejada resistência, sem perder outras características de interesse, serão selecionados. Uma sequência desse método é o uso de seleção massal recorrente, em que os melhores indivíduos selecionados dos cruzamentos entre diferentes parentais são cruzados entre si, reduzindo, assim, os problemas resultantes da endogamia.

...

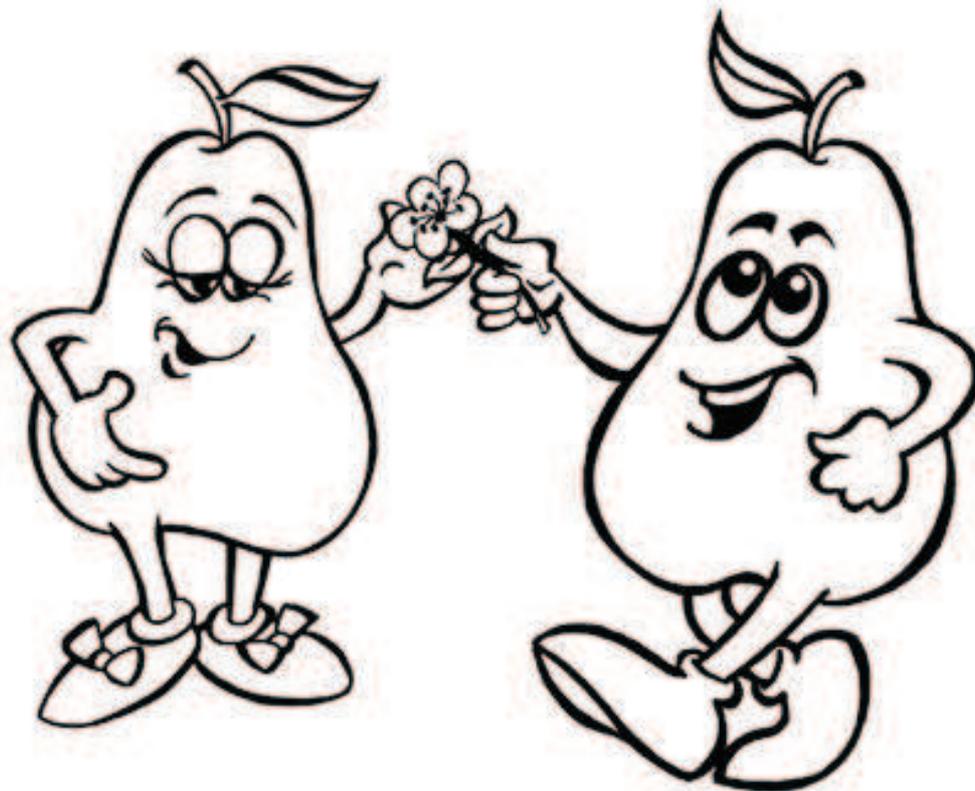
54) Quais são os objetivos do melhoramento genético da pera?

Os objetivos de um programa de melhoramento genético são determinados pelas demandas do setor produtivo e dos mercados consumidores. As principais características de interesse dos produtores estão associadas à resistência a doenças e pragas, à qualidade dos frutos, à produtividade e à adaptação climática. Os consumidores apresentam demandas com relação às características sensoriais dos frutos, entre as quais o formato, a cor, o sabor e a textura da pera.

O estabelecimento de uma nova cultivar no mercado não é um processo fácil, mas a disponibilidade de materiais genéticos superiores pode revitalizar o interesse pela cultura e oferecer aos consumidores produtos de maior qualidade e novas opções de escolha.

...

55) Como são feitos os cruzamentos controlados no melhoramento genético?



A realização de cruzamentos depende da compatibilidade sexual entre os materiais, ou seja, da capacidade de o grão de pólen do parental masculino fecundar o óvulo do parental feminino e produzir sementes viáveis na progênie. Além de cultivares comerciais, outras espécies do gênero *Pyrus* com a mesma ploidia (número de cromossomos) da pera europeia (*P. communis*,  $2n = 34$ ) podem ser empregadas em cruzamentos controlados, incluindo as peras japonesas *P. pyrifolia*, as peras selvagens europeias *P. pyraster* e *P. caucasica*, e as peras chinesas ou peras siberianas *P. ussuriensis*. Nos cruzamentos controlados, o pólen é coletado do parental masculino e aplicado no estigma do parental feminino, para que ocorra a fertilização do óvulo, chegando até a formação do fruto. Depois do desenvolvimento dos frutos resultantes do cruzamento, as sementes são germinadas para formarem uma nova planta híbrida, que será, posteriormente, submetida aos processos de avaliação e seleção.

...

56) Além da hibridação sexual (cruzamentos), existem outros métodos de introduzir variabilidade genética na pera?

Sim. Novas características podem ser geradas pela indução de mutação (mutagênese), pela alteração no nível de ploidia e pela engenharia genética. As mutações e as alterações no nível de ploidia podem ocorrer naturalmente, porém em baixa frequência.

•••

57) Em que consiste a indução de mutação?

A indução de mutação é feita com o uso de agentes químicos, físicos ou biológicos que provoquem alterações no material genético das plantas. Nas plantas de propagação vegetativa, como a pereira, as plantas parentais são frequentemente heterozigotas, ou seja, possuem alelos distintos em um determinado loco genético. Como consequência, apenas as mutações nos alelos dominantes desses locos são reconhecíveis, pois as mutações nos alelos recessivos são mascaradas pela presença de alelo(s) dominante(s) no mesmo loco. As mutações podem ocorrer em uma única célula ou em um conjunto de células próximas (setor) de uma estrutura vegetal multicelular, dando origem a uma planta quimérica. Nas plantas de propagação vegetativa, setores mutantes, como ramos e gemas, podem ser isolados e dar origem a indivíduos uniformemente mutados.

•••

58) Como as alterações no nível de ploidia podem ser induzidas?

As alterações no nível de ploidia podem ser induzidas pela

aplicação, em células somáticas ou germinativas, de compostos químicos que interferem com a divisão celular na mitose, sendo denominados “antimitóticos”. A maior parte dos compostos usados para a alteração da ploidia celular interfere no metabolismo das proteínas tubulinas, responsáveis pela formação das fibras do fuso envolvidas na migração dos cromossômicos na divisão celular. As alterações no nível de ploidia podem dar origem a indivíduos aneuploides (alteração numérica em uma parte do conjunto cromossômico, por exemplo:  $2n + 1$ ,  $2n - 2$ ,  $3n$ , etc.) ou poliploides (alteração numérica no conjunto cromossômico, por exemplo:  $4n$ ,  $8n$ , etc.).

•••

## 59) Como a engenharia genética pode gerar variabilidade?

A engenharia genética emprega vetores biológicos ou físicos para a introdução de genes conhecidos em células somáticas ou germinativas das plantas. O vetor biológico mais frequentemente empregado na engenharia genética das plantas é uma espécie de rizóbio, denominado *Agrobacterium tumefaciens*. Os vetores físicos podem consistir de micropartículas aceleradas ou pulsos elétricos ultrarrápidos. Na engenharia genética, as características de interesse devem ser introduzidas em células ou tecidos com capacidade de regenerar novas plantas completas, dando origem a indivíduos modificados. Na engenharia genética de plantas, o sítio de inserção dos genes de interesse no genoma hospedeiro é aleatório. Para o controle do local de inserção, é necessário elaborar alterações na atividade das enzimas que atuam sobre o genoma. A engenharia genética que emprega apenas sequências de DNA encontradas na natureza é denominada “cisgênese”, e aquela que usa exclusivamente sequências da própria espécie-alvo é conhecida por “intragênese”.

•••

## 60) O que são mutações somáticas?

São alterações que ocorrem de maneira espontânea no material genético de tecidos vegetais das plantas, em decorrência de falhas nos mecanismos genéticos de controle da replicação celular durante o crescimento, as quais podem resultar em alteração nas suas características morfológicas. Esse tipo de variação é denominado de “variação somática” pelo fato de ocorrer nas células não envolvidas com a reprodução sexual, ou seja, em tecido somático.

...

## 61) Que tipos de mutações somáticas são mais fáceis de identificar?

Mutações que afetam certas características, como hábito de crescimento da planta, coloração da película e *russeting* dos frutos, são reconhecidas mais facilmente.

...

## 62) Assim como em outras espécies frutíferas, as mutações somáticas são observadas nas pereiras?

Sim. Podem ser citadas como exemplos de cultivares originadas dessa forma: Starkrimson, derivada de Clapp's Favorite e com película de cor vermelho-sólida; Max Red Bartlett, derivada de Bartlett (= William's) e com película de cor vermelho-escura; e Conference Bronzee, derivada de Conference e apresentando película amarelo-esverdeada, com alguma cobertura de *russeting* dourado-escuro.

...

63) Por que as cultivares devem ser avaliadas em vários locais?

Como é importante que as cultivares sejam adaptadas às condições ambientais da região produtora, deve ser efetuada uma avaliação rigorosa de sua produtividade e da constância de produção sob condições ambientais específicas. As adaptações mais importantes referem-se à temperatura, à disponibilidade hídrica, a condições de solo e a respostas a doenças e patógenos. A disponibilidade de cultivares adaptadas pode favorecer a redução das necessidades de agroquímicos, além de proporcionar produtividades satisfatórias.

•••

64) Uma cultivar de pereira recentemente lançada em outro país pode ter sucesso se plantada no Brasil?

Além da obrigatoriedade de observar os aspectos legais que envolvem a introdução de material vegetal, será necessário avaliar a adaptação dessa nova cultivar às condições locais de cultivo. Somente uma avaliação cuidadosa permitirá que sejam tiradas conclusões sobre o potencial produtivo e comercial da cultivar introduzida.

No entanto, na sua maior parte, as variedades obtidas em outros países, como os situados na Europa, na Ásia ou na América do Norte, possuem alta exigência em frio hibernal e, por essa razão, têm menor chance de adaptação às condições climáticas do Brasil, mesmo na região Sul, que apresenta maior intensidade de frio.

•••

65) Quanto tempo é necessário para o desenvolvimento de uma nova cultivar de pera?

O longo tempo de geração (período compreendido desde a obtenção da semente proveniente do cruzamento controlado até a formação de uma árvore produtiva) é o fator que mais influencia o tempo para o desenvolvimento de novas variedades de pera. O uso de material genético proveniente de peras asiáticas favorece a precocidade, reduzindo o período necessário para a produção de novas cultivares. O tempo médio para o lançamento de uma nova cultivar de pereira, a contar do cruzamento, varia de 15 a 20 anos.

•••

66) Onde as equipes de melhoramento genético encontram características de interesse no desenvolvimento de variedades melhoradas?

No melhoramento tradicional, as características de interesse são obtidas de materiais genéticos (germoplasma) compatíveis para cruzamento sexual, ou seja, outras cultivares ou outras espécies com o mesmo número de cromossomos.

•••

67) Quais as principais técnicas de cultura de tecidos aplicadas à cultura de pera?



A cultura de tecidos de plantas é um conjunto de técnicas empregadas para a manutenção ou indução do crescimento de células, tecidos ou órgãos vegetais sob condições assépticas em um meio nutriente de composição conhecida. A cultura de tecidos é empregada frequentemente para a produção de cópias geneticamente idênticas (clones) de plantas de interesse (propagação in vitro ou micropropagação).

Na cultura da pereira, as técnicas in vitro mais frequentemente utilizadas são: micropropagação, microenxertia, criopreservação, hibridização somática e organogênese. A organogênese é empregada na indução de mutação, na poliploidia e na regeneração de materiais submetidos à engenharia genética.

•••

## 68) O que são marcadores genéticos?

Marcadores genéticos são características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas ou moleculares que permitem a caracterização de um determinado indivíduo. Por exemplo, o

formato do fruto é um marcador genético morfológico. Os marcadores genéticos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos são grandemente influenciados pelo ambiente, dificultando sua repetibilidade. Assim, a caracterização de uma cultivar com base em marcadores morfológicos é frequentemente imprecisa.

Os marcadores moleculares correspondem a segmentos identificáveis do material genético de um indivíduo. A associação direta desses marcadores com o material genético (DNA) faz com que, ao contrário dos demais tipos de marcadores, não sofram influência do ambiente. Portanto, entre todos os tipos de marcadores genéticos, os marcadores moleculares são os mais empregados em programas de melhoramento.

•••

69) Qual é o uso dos marcadores moleculares no melhoramento da pereira?

Os marcadores podem ser empregados para identificar genótipos (genotipagem), para estabelecer as diferenças genéticas entre indivíduos, em estudos da interação entre características de interesse e segmentos do genoma (mapeamento) e em estudos evolutivos.

•••

70) As sementes obtidas de um fruto de pera, colhido em pomar comercial, podem ser usadas para formar um pomar?

A pereira possui altos níveis de heterozigosidade, ou seja, alta frequência de alelos diferentes nos locos, ao longo dos cromossomos. A heterozigosidade contribui para o aumento da diversidade genética, ou seja, com um grande número de alelos

diferentes, as possibilidades de combinação são maiores, gerando uma alta frequência de indivíduos geneticamente distintos.

Além disso, a pereira frequentemente é autoincompatível; portanto, o pólen de um material é incapaz de fertilizar flores do mesmo material. Essa característica contribui para a manutenção da alta heterozigosidade na cultura. Assim, a semente de uma pera comercial é resultante da combinação entre materiais heterozigotos e distintos, dando origem a indivíduos diferentes dos parentais. Portanto, não é indicado o uso das sementes de frutos comerciais para a formação de um pomar, pois as características das plantas obtidas serão distintas entre si e dos parentais.

Para a manutenção das características genéticas das cultivares, os pomares devem ser formados com plantas propagadas sem cruzamento, de forma assexual, por micropropagação in vitro, estaquia ou enxertia de gemas.

•••