



Os programas de melhoramento convencional desenvolvem novas variedades de plantas a partir de cruzamentos sexuais entre parentais que possuem as características de interesse; em seguida, são selecionados os indivíduos da progênie que exibem os caracteres desejados e retêm os níveis de produção considerados adequados. Em fruteiras perenes, o melhoramento convencional é prejudicado pelo ciclo reprodutivo longo, pela duração extensa do período juvenil nas plantas, pela complexidade da biologia reprodutiva e pelo alto grau de heterozigiosidade dos materiais (Petri & Burgos, 2005). Nessas espécies, a introdução de novas características em cultivares-élite é um processo longo e trabalhoso, pois após a introdução de um caráter por cruzamento, é necessário recuperar outras características produtivas desejáveis. A **hibridização** entre células somáticas permite que as barreiras reprodutivas sejam rompidas, gerando produtos híbridos de plantas não compatíveis para cruzamento sexual (Johnson & Veilleux, 2000). Entretanto, a obtenção de indivíduos viáveis é tecnicamente complexa e determinada por fatores espécie-específicos que restringem a aplicabilidade da técnica a algumas poucas espécies vegetais (Xia, 2009).

A partir de meados dos anos 80, foram desenvolvidos sistemas de transferência interestespecífica de DNA empregando linhagens modificadas da bactéria do solo *Agrobacterium*

Avanços e Perspectivas da Engenharia Genética em Fruteiras - * Vera Maria Quecini

principal vetor para a introdução de DNA em plantas (Gelvin, 2009). Também foram desenvolvidos métodos baseados em forças físicas para a transferência de DNA para células vegetais, como a eletroporação de protoplastos, de tecidos intactos e bombardeamento com microprojéteis (revisão em Rao et al., 2009). O desenvolvimento dos métodos diretos, que não requerem intermediários biológicos, permitiu a expansão das espécies vegetais passíveis de transformação genética, incluindo aquelas consideradas fora do espectro de hospedeiras de *Agrobacterium*, como monocotiledôneas (Vasil, 2005).

Por aproximadamente duas décadas, as limitações no conhecimento disponível sobre a função e regulação gênica em plantas fez com que a grande maioria das sequências regulatórias e genes introduzidos nas plantas por engenharia genética fossem derivados de organismos cujos genomas foram mais facilmente submetidos à investigação molecular; como vírus e bactérias (Rommens, 2004; Rommens et al., 2004). Recentemente, a caracterização funcional de genes e elementos regulatórios de plantas permitiu o desenvolvimento de tecnologias de engenharia genética baseadas no isolamento de elementos genéticos específicos de uma planta e sua re-inserção no genoma de espécies vegetais pertencentes ao mesmo grupo de compatibilidade sexual, visando a uma modulação fina do genoma para a geração de características de interesse (Jacobsen & Schouten, 2007; Rommens et al., 2007). As duas tecnologias que empregam sequências dos próprios genomas vegetais para a engenharia genética, denominadas intragênese (Rommens et al., 2007) e cisgênese (Jacobsen & Schouten, 2007), são conceitualmente semelhantes, mas apresentam duas diferenças principais; na cisgênese, a sequência codificadora é dirigida por seu promotor nativo, contém seus introns e sequência terminadora natural (Jacobsen & Schouten,

et al., 2005). As características das metodologias empregadas na engenharia genética estão resumidas na Figura 1.

O emprego de sequências exclusivamente ou predominantemente vegetais na engenharia genética, devido ao uso das tecnologias intragênese e cisgênese, possibilitará uma expansão significativa no emprego da diversidade natural, funcionando como impulso para iniciativas de caracterização, conservação, análises genéticas e abordagens investigativas de larga escala. A importância dos recursos biológicos para o aprimoramento de técnicas e metodologias de engenharia genética pode ser claramente identificada pelo papel fundamental desempenhado pelo conhecimento de bactérias simbiotes associadas às plantas (Broothaerts et al., 2005), dos próprios genomas vegetais (Rommens et al., 2004; Rommens et al., 2005) e da função das sequências regulatórias endógenas (Espley et al., 2009).

A relutância dos consumidores em adquirir produtos geneticamente modificados, principalmente em alguns países da Comunidade Européia, também pode ser significativamente reduzida com o emprego de sequências predominantemente vegetais na engenharia genética (Rommens, 2010). Estudos recentes têm demonstrado que os consumidores preferem consumir produtos geneticamente modificados ao invés de produtos convencionais, quando os primeiros estão livres de pulverizações com agroquímicos e são fornecidos a preços competitivos (Knight et al., 2007). Igualmente, pesquisas com consumidores têm demonstrado que alimentos geneticamente modificados que trazem benefícios à saúde, como com maior teor de antioxidantes e vitamina C, seriam preferidos aos produtos convencionais (Rommens, 2010; Hossain & Onyango, 2004; Onyango & Nayga, 2004). A percepção negativa do público com relação aos alimentos geneticamente modificados está associada à trans-

RODRÍGUEZ, C.; JEFFERSON, R.A. Gene transfer to plants by diverse species of bacteria. *Nature*, v.433, p.629–633, 2005. ESPLEY, R.V.; BRENDOLISE, C.; CHAGNÉ, D.; KUTTY-AMMA, S.; GREEN, S.; VOLZ, R.; PUTTERILL, J.; SCHOUTEN, H.J.; GARDINER, S.E.; HELLENS, R.P.; ALLAN, A.C. Multiple repeats of a promoter segment causes transcription factor autoregulation in red apples. *Plant Cell*, v.21, p.168-183, 2009. GELVIN, S.B. *Agrobacterium* in the genomics age. *Plant Physiology*, v. 150, p.1665-1676, 2009. HOSSAIN, F.; ONYANGO, B. Product attributes and consumer acceptance of nutritionally enhanced genetically modified foods. *International Journal of Consumption Studies*, v.28, p.255–267, 2004. JACOBSEN, E.; SCHOUTEN, H.J. Cisgenesis strongly improves introgression breeding and induced translocation breeding of plants. *Trends in Biotechnology*, v.25, p.220-223, 2007. JOHNSON, A.A.T.; VEILLEUX, R.E. Somatic hybridization and application in plant breeding. *Plant Breeding Reviews*, v.20, p.167–225, 2000. LUSK, J.L.; ROZAN, A. Consumer acceptance of ingenic foods. *Biotechnology Journal*, v.1, p.1–2, 2006. LUSK, J.L.; SULLIVAN, P. Consumer acceptance of genetically modified foods. *Food Technology*, v.56, p.32–37, 2002. ONYANGO, B.M.; NAYGA, R.M. Consumer acceptance of nutritionally enhanced genetically modified food: relevance of gene transfer technology. *Journal of Agricultural Research and Economy*, v.29, p.567–583, 2004. PETRI, C.; BURGOS, L. Transformation of fruit trees. Useful breeding tool or continued future prospect? *Transgenic Research*, v.14, p. 15–26, 2005. RAO, A.Q.; BAKHSH, A.; KIANI, S.; SHAHZAD, K.; SHAHID, A.A.; HUSNAIN, T.; RIAZUDDIN, S. The myth of plant transformation. *Biotechnology Advances*, v.27, p.753-763, 2009. ROMMENS, C.M. All-native DNA transformation: a new approach to plant genetic engineering. *Trends in Plant Sciences*, v.9, p.457–464, 2004. ROMMENS, C.M. Barriers and paths to market for genetically engineered crops. *Plant Biotechnology Journal*, v.8, p. 101–111,

procurada da bactéria do solo *Agrobacterium tumefaciens* (revisão em Gelvin, 2009). As bases moleculares desta transferência envolvem a atividade de uma molécula circular de DNA e com auto-replicação, denominada plasmídeo indutor de tumor ou **tumor-inducing** (Ti), presente em linhagens virulentas da bactéria. Especificamente, uma parte do plasmídeo Ti, o DNA transferido ou **transferred-DNA** (T-DNA), delimitado por sequências repetitivas no DNA, é transferido para a célula vegetal, integrado no DNA nuclear e transcrito. A biologia da interação e transferência de DNA entre agrobactérias e as plantas hospedeiras tem sido extensivamente investigada, sendo que o emprego de tecnologias genômicas, genéticas e de aquisição de imagens *in vivo* permitiu um aumento significativo no conhecimento do processo e na utilização de *Agrobacterium* como o

fermentadora natural (Jacobsen & Schouten, 2007), enquanto que na intragênese, são realizadas *in vitro* novas combinações de sequências codificadoras e promotoras, e não há requerimentos específicos para sequências reguladoras e de interrupção desde que sejam provenientes da mesma espécie ou de outras sexualmente compatíveis (Rommens et al., 2007). Construções gênicas de RNA interferente (RNAi, do inglês: *RNA interference*) também são consideradas aceitáveis no conceito de intragênese (Rommens et al., 2004). A segunda diferença entre as duas tecnologias é que o conceito de cisgênese não contempla restrições ao uso das bordas do T-DNA de *Agrobacterium* (Jacobsen & Schouten, 2007), enquanto que a intragênese preconiza o emprego de sequências de origem vegetal semelhantes às bordas do T-DNA na transformação de plantas (Rom-

nicamente modificados está associada à transferência de genes entre espécies distintas (Rozan, 2006), sendo que a rejeição de alimentos geneticamente modificados contendo genes provenientes de bactéria chega a 83%, chegando a apenas 29% quando o alimento geneticamente alterado carrega genes da mesma espécie vegetal (Lusk & Sullivan, 2002; Lusk & Rozan, 2006). Futuramente, as novas tecnologias de engenharia genética têm o potencial de reduzir grandemente as restrições do público consumidor com relação aos alimentos geneticamente modificados. * **Pesquisadora e Dra. Vera Maria Quecini - vera@cnpv.embra.br** - **Referências citadas:** BROOThAERTS, W.; MITCHELL, H.J.; WEIR, B.; KAINES, S.; SMITH, L.M.; YANG, W.; MAYER, J.E.; ROA-

2010. ROMMENS, C.M.; BOUGRI, O.; YAN, H.; HUMARA, J.M.; OWEN, J.; SWORDS, K.; YE, J. Plant-derived transfer DNAs. *Plant Physiology*, v.139, p.1338-1349, 2005. ROMMENS, C.M.; HARING, M.A.; SWORDS, K.; DAVIES, H.V.; BELKNAP, W.R. The intragenic approach as a new extension to traditional plant breeding. *Trends in Plant Sciences*, v.12, p.397-403, 2007. ROMMENS, C.M.; HUMARA, J.M.; YE, J.; YAN, H.; RICHAEEL, C.; ZHANG, L.; PERRY, R.; SWORDS, K. Crop improvement through modification of the plant's own genome. *Plant Physiology*, v.135, p.421-431, 2004. VASIL, I.K. The story of transgenic cereals: the challenge, the debate, and the solution—a historical perspective. *In Vitro Cellular and Developmental Biology of Plants*, v.4, p.577-583, 2005.

Infarto x Maçã

Estava em um velório, quando escuto no meio do silêncio, comentários sobre o aumento dos infartos relacionado com o uso dos “venenos” na maçã. Morrem pessoas todos os dias, assim como nascem, mas assuntos sem embasamentos não poderiam sobreviver. Existem pessoas sobre carregadas de problemas, com stress, com colesterol alto, mas o problema, dizem, são as maçãs.

Na atual sociedade, em que vivemos a loucura da pressa, do sedentarismo, de dívidas, da falta de conhecimento, faz com o que ocorram várias vítimas do coração, e o problema, dizem, são as maçãs. Um belo bode expiatório, jogar a culpa, numa fruta que não consegue falar, para se defender. A maçã já carrega a culpa de ter expulsado Eva e Adão do paraíso. A medicina moderna, já realizou várias pesquisas sobre alimentação saudável e benefícios do uso da maçã na dieta do homem.

Hoje existem produtos registrados, e vários controles realizados pelas empresas produtoras de maçãs que atestam a sua condição segura para consumo in natura.

A nossa fruta, é largamente exportada e procurada em vários países do mundo pelo seu



sabor, mas ainda temos que escutar pessoas sem informação, falarem absurdos sem conhecimento. Às vezes pessoas morrem de infarto, sem nunca comerem uma maçã, ou vivem mais de cem anos comendo maçã todos os dias.

Seria melhor, quando não se tem assunto, ficar quieto, respeitar o falecido, quando no caso se estiver num velório.

No caso das estórias em quadrinhos a Branca de Neve foi envenenada através de uma maçã, mas por estar adormecida, foi acordada pelo seu príncipe encantado, seria bom que mais pessoas acordassem e não falassem mal daquilo que não lhe convém. A vida já é curta deve ser melhor aproveitada, com bastante paz e saúde, para isso viva melhor, alimentando-se de frutas.

* **Leonardo Rasera Maia - Engº Agrº**
Consultor Frigoconservação Rasip

Engenharia Genética	Fonte				Tempo para desenvolvimento		% genoma	Preocupações		Potencial da característica introduzida
	distância genética				~ 4 a 6 anos	~ 8 a 20 anos		Transferência de DNA exógeno	Preocupações consumidores	
Transgênico	Xenogênico	Transgênico	Famigênico	Autogênico	~ 4 a 6 anos	~ 8 a 20 anos	< 0,1%	+	+	novas características, genes de origem viral, fúngica, bacteriana e de outras plantas
Xenogênico	barreira da compatibilidade sexual				vetor binário		< 0,1%	+	+	novas características, genes sintéticos
Cisgênico					vetor binário		< 0,1%	-	?	novas características, genes e sequências regulatórias nativas, não aceita o uso de RNAi
Intragênico					vetor P-DNA		< 0,1%	-	?	características já existentes, modular expressão de genes nativos, aceita uso RNAi

Figura 1 - Resumo das principais características das metodologias atuais para a engenharia genética de plantas. A distância genética entre as fontes de DNA e a planta-alvo está indicada pelas colunas da esquerda em graduação de vermelho (externo) a rosa claro (compatível sexualmente). A barreira reprodutiva está representada por uma linha pontilhada vertical. Xenogênico: DNA sintético, Transgênico: DNA de origem viral, bacteriana, fúngica ou de outras plantas, Famigênico: DNA de plantas da mesma família, Autogênico: DNA de plantas de espécies sexualmente compatíveis (Adaptado de Rommens et al., 2007)