



Histórico e inovação do
melhoramento genético

plantas

Ferramentas moleculares que prometem
acelerar prática milenar



Evolução do melhoramento genético de plantas

Atualmente, todos os vegetais utilizados na produção agrícola são representados por espécies domesticadas. Tal fato ocorre porque desde a pré-história, o homem vem selecionando os cereais de sua alimentação. Esse comportamento marca a transição cultural do *Homo sapiens sapiens*, que passa de coletor a cultivador. Dessa forma começam a se organizar as primeiras sociedades sedentárias - povoados que possuem estoques de alimentos e podem se desenvolver socialmente.

Há aproximadamente 12.000 anos, com o aquecimento do clima, os solos foram transformados pelo progressivo aparecimento de savanas ricas em cereais (cevada, milho e trigo) que, naquela época, eram bastante heterogêneos. Contudo, a medida que o homem pré-histórico passou a colher e semear grãos, sempre na mesma época do calendário, foi eliminando algumas características dessas plantas como dormência, desenvolvimento lento, sementes pequenas e caules frágeis. As sementes que carregavam essas características não tinham tempo hábil para se desenvolver ou eram perdidas pela falta de habilidade dos primeiros "agricultores". Com isso, se iniciou o melhoramento vegetal de forma totalmente empírica e ao acaso.

Para ilustrarmos essa trajetória e a inserção da ciência no aprimoramento vegetal, podemos explorar o início da domesticação das plantas. Não é novidade afirmar que o milho, como o conhecemos atualmente, é muito diferente daquele de 12 mil anos atrás. As diferenças observadas são decorrentes das escolhas realizadas pelos agricultores ancestrais, que com o passar de milhares de anos foram desenvolvendo suas habilidades para o cultivo.

Ainda na pré-história o homem passou a ter consciência de que ao cruzar apenas indivíduos de teosinto (ancestral do milho) com uma maior quantidade de grãos por espiga, resultaria na produção de "filhos" do teosinto com um número ainda maior de grãos. Assim, descobrimos como selecionar e multiplicar as plantas que apresentavam as características interessantes para a agricultura.

O que os povos ancestrais não sabiam é que ao cultivarem esses cereais para sua alimentação, já estavam



10.000 A.C.
Início da agricultura



1866
Leis de Mendel
(herança genética)



1900
Melhoramento
genético convencional



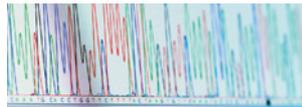
Déc. de 1930
Melhoramento
por mutação



1953
Descoberta a
estrutura do DNA



1972
Tecnologia de DNA
recombinante



1975
Técnica para sequen-
ciamento do DNA



Déc. de 1980
Melhoramento por
marcadores moleculares



Déc. de 1990
Melhoramento por
edição genética



2013
Primeiros vegetais
in vitro a partir da
técnica *CRISPR/Cas9*

* Foto: Marjorie McCarty

modificando o meio ambiente a sua volta e consequentemente, selecionando genes e alterando o genoma dessas plantas.

Hoje em dia, o melhoramento genético incorpora diversos conhecimentos das ciências biológicas e é amplamente utilizado em plantas e animais de criação. Seus processos são fundamentados nos conceitos de evolução populacional, teoria da seleção, genética quantitativa, análises estatísticas e são apoiados por diversas técnicas de biologia molecular.

Na domesticação, os agricultores ancestrais selecionaram variações genéticas do teosinto dentro da espécie, fixando novas características para as próximas gerações.

A partir daí essas variedades foram submetidas a diferentes condições de campo que impuseram outras alterações no genoma do milho. Igualmente, todas as plantas domesticadas passaram por esse processo e apresentam hoje um genoma muito diferente daquele de milhares de anos atrás.

Entre os agricultores ancestrais e a produção moderna de alimentos, uma descoberta foi fundamental para o avanço do melhoramento genético. Gregor Mendel foi quem desvendou como funcionava a transmissão de características entre as gerações de plantas, como, por exemplo, o tamanho dos grãos do teosinto. Mendel realizou cruzamentos com mais de 300 mil plantas de diferentes tamanhos, cores de flores e rugosidade das sementes e, com isso, demonstrou como a hereditariedade ocorria em ervilhas. Mendel elaborou um sistema para contagem dos híbridos resultantes e formulou leis relativas à herança genética dos caracteres dominantes e recessivos. Essa contribuição foi fundamental para a agricultura. Com base nas leis descritas por Gregor Mendel, os pesquisadores **aprimoraram as técnicas de melhoramento**, resultando no desenvolvimento não só de variedades mais produtivas, mas também de variedades que apresentassem características que incluem:

- Adaptação a diferentes condições ambientais;
- Resistência a doenças;
- Resistência a pragas;
- Frutas sem sementes;

O melhoramento genético de plantas passou a depender da identificação de características de interesse dentro de espécies sexualmente compatíveis.



Teosinto

Ancestral do milho, era muito mais parecido com uma gramínea. Apresentava pouquíssimos grãos agrupados em hastes que não passavam de 5 cm.



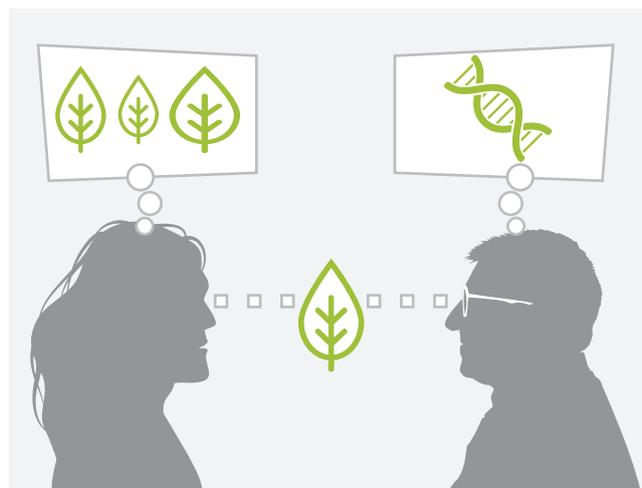
Milho moderno

Milhares de anos de seleção resultaram no milho que conhecemos hoje, com grãos maiores e em maior quantidade.

* Imagem: Hugh Iltis (<https://teosinte.wisc.edu/images.html>)



* Pai do melhoramento genético, Gregor Mendel (1822 – 1884) descobriu como funcionava a transmissão de características entre as gerações, apresentando as leis da herança genética.



Com as descobertas de Mendel, o melhoramento de plantas incorpora informações além dos aspectos visuais dos vegetais. Inicia-se o pensamento sobre as características genéticas, sobre como selecionar e passar adiante o melhor material genético de uma planta.

Melhoramento decorrente da variabilidade genética

É fácil visualizar que nós, seres humanos, possuímos uma grande variabilidade genética. Para isso, basta olharmos ao nosso redor e veremos como somos diferentes uns dos outros. O mesmo ocorre entre as plantas. **A partir de recursos genéticos da própria espécie ou de espécies sexualmente compatíveis**, pesquisadores cruzam materiais genéticos com diferentes características para produzir uma nova variedade genética, ou seja, uma planta filha que é morfológica e funcionalmente diferente dos seus pais. As diferenças observadas na nova planta são possíveis em função da variabilidade genética de cada ser vivo. Tomemos como exemplo duas variedades de cacau. A primeira produz um fruto de excelente qualidade, mas é sensível ao ataque de fungos. A segunda, embora resista aos fungos, possui um fruto de qualidade inferior. Fazendo o cruzamento das duas variedades é possível obter uma planta filha com as melhores características de cada um dos pais, isto é, a qualidade do fruto de um e a resistência a fungos de outro. O melhoramento genético de plantas realizado dessa forma, é um processo demorado, necessitando inúmeros cruzamentos e avaliações por muitos anos de todos os descendentes, até que uma nova cultivar seja selecionada para comercialização.

* Imagem: William Bateson

Melhoramento induzido por mutações

O processo de melhoramento genético promoveu a seleção e propagação de cultivares de interesse para a alimentação humana. Sabendo-se que a variabilidade genética é importante para a manifestação de características de interesse, passamos a prestar atenção nas **mutações espontâneas** e também a desenvolver técnicas que induzissem mutações (**mutações induzidas**). As mutações genéticas são mudanças nas sequências de nucleotídeos de DNA, as quais podem alterar a função de um gene, aumentando a variabilidade genética de um organismo. As mutações podem ocorrer de forma natural (espontânea) ou induzida. Mutações espontâneas ocorrem ao acaso, durante a divisão celular ou promovidas por fatores externos (naturais). São imprevisíveis e de difícil identificação, afetando um único gene ou muitos.

Dentro de programas de melhoramento genético vegetal, é comum a busca por variabilidade genética nos "bancos de germoplasma", locais onde são mantidas diferentes variedades de plantas decorrentes de mutações espontâneas de uma mesma espécie. Com isso, representantes da diversidade encontrada na natureza são mantidos em instituições de pesquisa para estudos genéticos.

As mutações induzidas tiveram seu início empregando agentes químicos ou físicos promotores de altera-

ções aleatórias no genoma de plantas. A medida que o uso desses agentes foram revelando eficiência na produção de espécies vegetais com alta variabilidade genética, as técnicas de mutagênese foram sendo aperfeiçoadas. De modo geral, essas mutações podem envolver alterações de um ou mais genes como resultado de substituições, inserções ou deleções de fragmentos de DNA.

Há mais de 60 anos o homem vem desenvolvendo novas variedades vegetais empregando diferentes técnicas para indução de mutações. Alguns exemplos de mutações bem-sucedidas de plantas, incluem:

- Variedades de arroz com maior potencial produtivo;
- Melancias sem sementes;
- Amendoins com cascas mais duras;
- Tomates resistentes a diversas doenças;
- Variedades de peras resistentes a doenças;
- Cultivares de algodão tolerantes ao calor e de desenvolvimento precoce;
- Plantas de cacau resistentes a insetos;
- Plantas de cevada mais baixas e com alta produtividade, próprias para cervejarias;
- Plantas de canola com mais óleos saudáveis em suas composições.

Inovação no melhoramento genético de plantas

Os avanços na genética e a descoberta das *nucleases de restrição* (enzimas que cortam o DNA) permitiram no início da década de 1970 o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante. Os cientistas passaram então a isolar, replicar e sequenciar uma região selecionada do DNA a partir de um genoma. Tecnologias que culminaram no desenvolvimento de **marcadores genéticos moleculares**, utilizados no melhoramento vegetal a partir da década de 1980.

Os marcadores moleculares servem como identidade genética nas diferentes variedades vegetais. São úteis para seleção de características desejáveis dentro das variedades depositadas em bancos de germoplasma, auxiliando no planejamento dos cruzamentos a serem realizados, acelerando os programas de melhoramento vegetal.

Por muitos anos os pesquisadores trabalharam para mapear o genoma de plantas cultivadas, identificando regiões responsáveis por diversas características, entre elas, o aumento de qualidade nutricionais, produtividade, tolerância a seca e doenças. Empregando as técnicas de mapeamento genético, tornou-se possível a seleção de vegetais pela informação molecular, não sendo mais necessário, por exemplo, esperar o ciclo completo (do plantio a colheita) para descobrir se a nova variedade seria tolerante a uma doença. Com isso, **o melhoramento genético foi encurtando prazos e ganhando eficiência.**

Desta forma, enquanto as descobertas de Mendel e os avanços decorrentes de suas leis permitiram que os melhoristas passassem a “olhar” para o material genético de cada variedade, a biologia molecular aprofundou a abordagem sobre esse material genético. A partir daí, podemos não só identificar quais genes são responsáveis por determinadas funções, mas também, é possível transferi-los para uma variedade de interesse. As possibilidades para o aprimoramento vegetal passaram a ser diversificadas. A tecnologia do DNA recombinante possibilitou que o DNA manipulado fosse reintroduzido em uma célula vegetal ou animal. Os organismos decorrentes dessa transformação passaram a ser denominados organismos geneticamente modificados (OGM). Ainda que essa atribuição tenha sido muito mais por questões regulatórias do que propriamente conceituais.

No entanto, hoje, plantas podem ser obtidas a partir de novas técnicas moleculares, como por exemplo CRISPR, e que podem não apresentar nenhum resquício de DNA ou RNA adicionados durante seu desenvolvimento. Dessa forma, esses produtos se equiparam aos gerados por mutagênese e não são considerados OGM. Sendo identificados como vegetais melhorados geneticamente. Com isso, a decisão sobre o ser ou não um OGM, quando a planta é desenvolvida por técnicas moleculares que não apresentam DNA ou RNA recombinante no produto final, passou a ser um marco nas discussões sobre regulamentação de plantas para cultivo.

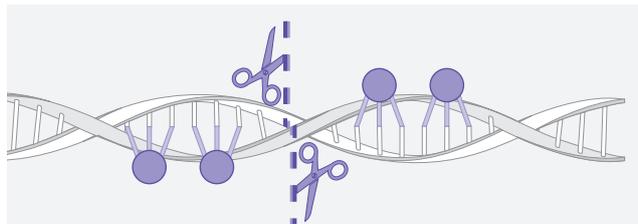
Em 2015 a Argentina foi o primeiro país a determinar que plantas geneticamente modificadas por técnicas de engenharia genética que resultassem em plantas sem DNA ou RNA recombinante não deveriam ser considerados OGM. A avaliação da natureza do pro-



duto final e não o processo associado ao seu desenvolvimento prevalece sobre a decisão regulatória. Em suma, as ferramentas mais recentes de biologia molecular podem ser usadas com altíssima precisão, tendo genes específicos como alvo e não necessariamente envolvendo inserções no genoma da planta. O resultado são mudanças pontuais que não permitem distinguirmos a planta modificada de uma não modificada. Passamos a fazer edição genética de organismos, incorporando novas ferramentas para se conduzir o antigo melhoramento genético de plantas.

Técnicas de edição genética

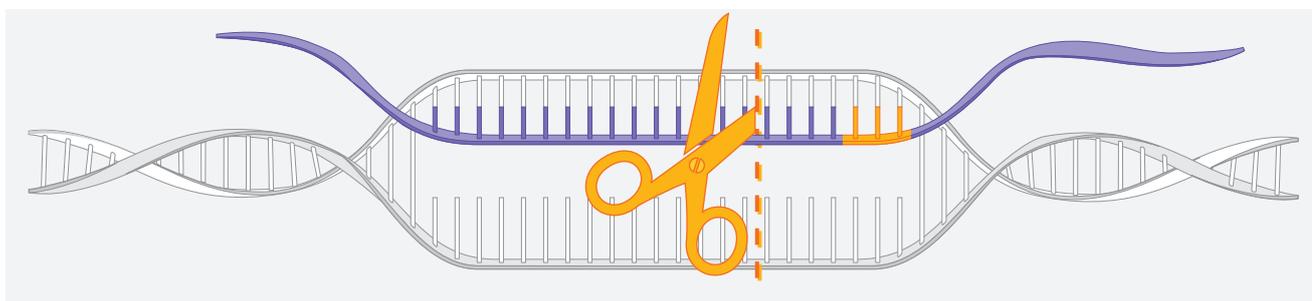
A grande novidade foi a descoberta de pequenas tesouras moleculares de alta precisão, capazes de literalmente cortar o DNA, dentro da célula, podendo ser utilizadas em uma grande variedade de seres vivos. Esses cortes quebram a dupla fita do DNA, que é rapidamente “consertada” por um sistema de reparo próprio da célula. Esse reparo pode acontecer por recombinação homóloga ou por recombinação não homóloga que liga extremidades diferentes do DNA. **Tanto as quebras na dupla fita do DNA, como seus reparos, acontecem naturalmente nas células.** No entanto, quando combinadas as tesouras moleculares às sequências de nucleotídeos capazes de reconhecer regiões do DNA a serem cortadas, é possível fazer correções no DNA, eliminando ou adicionando nucleotídeos, processo conhecido como edição genética.



Zinc Finger Nucleases “ZFN” (proteínas dedo de zinco com uma nuclease). Representação do que deve ser projetado pelos cientistas para realizar a edição genética em um DNA pela técnica ZFN. Cada esfera representa uma proteína dedo zinco (ou um “cão farejador”) que é capaz de reconhecer três nucleotídeos (trincas) na fita de DNA. Para aumentar a confiabilidade do corte, são necessárias várias proteínas dedo de zinco, cada uma capaz de reconhecer trincas diferentes. As proteínas dedo de zinco estão ligadas a nucleases *FokI* (representada pela tesoura), enzima que realiza o corte em apenas uma fita do DNA, por isso a engenharia para se utilizar as proteínas dedo de zinco é dobrada, uma vez que se deve montar uma ZFN para cada fita do DNA, só assim a dupla fita será cortada.



Transcription activator-like effector nuclease “TALEN” (proteína efetora com uma nuclease). Representação do que deve ser projetado para realizar a edição genética em um DNA pela técnica TALEN. Cada esfera representa dois aminoácidos variáveis da proteína efetora (nosso “cão farejador”) que é capaz de reconhecer um nucleotídeo, os aminoácidos variáveis dessa proteína efetora são projetados pelos cientistas a fim de reconhecer uma sequência específica na fita do DNA. A proteína efetora é então ligada à mesma nuclease *FokI* (representada pela tesoura), enzima que realiza o corte em apenas uma fita do DNA, por isso a engenharia para se utilizar as proteínas efetoras também é dobrada, uma vez que se deve montar uma TALEN para cada fita do DNA, só assim a dupla fita de DNA será cortada.



Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats com Cas9 “CRISPR/Cas9” (Conjunto de Repetições Palindrômicas Regularmente Espaçadas com Cas9). Representação do que deve ser projetado pelos cientistas para realizar a edição genética em um DNA pela técnica CRISPR/Cas9. A fita roxa representa o RNA guia (o “cão farejador”) que pode ter seus nucleotídeos projetados para reconhecer uma sequência específica do DNA por pareamento complementar dos nucleotídeos. Apenas os três nucleotídeos em laranja não podem ser modificados, essa trinca de nucleotídeos é conhecida como PAM (*protospacer-adjacent motif*) e vai dizer para a nuclease Cas9 (representada pela tesoura) o local em que o corte deve ocorrer. Diferentemente da *FokI*, apenas uma Cas9 é necessária para realizar o corte na dupla fita de DNA.

A edição genética foi bastante divulgada em 2007, quando pesquisadores descobriam que as sequências repetitivas de DNA, encontradas no genoma de bactérias, faziam parte do seu sistema imunológico. À época, já sabíamos que as bactérias produzem enzimas capazes de combater infecções virais. O que os pesquisadores descobriram foi que as bactérias também guardavam uma sequência do DNA desses invasores. Essa “lembrança” fica guardada em uma região específica do seu genoma, conhecida como *CRISPR* (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) em português “Conjunto de Repetições Palindrômicas Regularmente Espaçadas”. Quando uma nova infecção ocorre, as bactérias produzem enzimas que atuam tesouras moleculares), sendo a *Cas9* a mais conhecida e estudada. A *Cas9* carrega consigo aquelas “lembranças” e, se o novo invasor apresentar sequências idênticas a alguma dessas lembranças, será picotado pela *Cas9*, neutralizando o vírus invasor.

Com isso, podemos dizer que a técnica *CRISPR-Cas9* é uma cópia do sistema imune das bactérias.

Essa técnica é mais simples do que outras ferramentas moleculares de alteração de genoma, mais acessível para cientistas de empresas públicas e privadas em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Atualmente, muitos laboratórios brasileiros já realizam pesquisas de edição genética pela técnica de *CRISPR-Cas9*. A tecnologia *CRISPR-Cas9* pode ser usada em todas as culturas importantes para a agricultura, incluindo grãos, frutas e hortaliças. Para isso, um sistema de *CRISPR-Cas9* é desenvolvido para cada característica de interesse. Após essa engenharia, o sistema é então inserido na célula do organismo por técnicas moleculares. Uma vez que um ou mais genes tenham sido modificados, espera-se que essa alteração seja passada aos seus descendentes naturalmente, ou seja, aquela variedade não precisará ser editada novamente e não apresentará resquícios do sistema *CRISPR-Cas9*, que não foi integrado ao DNA do hospedeiro. Apenas induziu a alteração na região de interesse.

Desde então, os pesquisadores descobriram que o *CRISPR-Cas9* é bastante versátil. A técnica pode ser usada para “silenciar” genes e também aproveitar as enzimas de reparo para substituir genes desejados. Assim, por exemplo, é possível dizer à enzima *Cas9* para cortar um gene que causa uma doença e inserir

um gene “bom” no lugar.

São pelo menos 11 anos de pesquisas, muitas delas, com o objetivo de realizar provas de conceito, as quais se baseiam na utilização da técnica para se modificar um gene bem conhecido, tendo alta previsibilidade em relação ao resultado esperado.

Esses estudos foram realizados em diversas plantas e comprovaram a funcionalidade e confiabilidade da técnica *CRISPR*. Além disso, a pesquisa e a aplicação da edição gênica teve início há pelo menos 22 anos com o desenvolvimento das “*Zinc Finger Nucleases*”, mais conhecidas como *ZFN*. Elas são resultado de uma cadeia de proteínas “*zinc finger*” (em português: proteínas dedo de zinco) ligadas a uma nuclease (*FokI*). Essa proteína pode ser personalizada para reconhecer e cortar regiões específicas do DNA.

Alguns anos depois foram descobertas as “*Transcription activator-like effectors*” (*TALE*) proteínas efetoras, com regiões repetitivas altamente conservadas, com exceção de dois aminoácidos (repetições variáveis), os quais são responsáveis por dar especificidade ao reconhecimento de diferentes sequências de DNA. Pesquisadores conseguiram então ligar a *FokI* a essa proteína efetora e criaram o sistema conhecido como *TALEN* (do inglês *Transcription activator-like effector nuclease*). Ao modificarem as repetições variáveis é possível desenvolver *TALEN* capazes de reconhecer e cortar sequências de DNA pré-determinadas. Somente depois de todo esse conhecimento, chegamos ao *CRISPR-Cas9*. Ou seja, nesse momento os cientistas já estavam bem familiarizados com a edição genética. Portanto, preparados para compreender e aplicar a técnica. Fazendo um paralelo entre as três técnicas, a *FokI* e a *Cas9* são tesouras moleculares, enquanto as proteínas dedo de zinco, a proteína efetora e o *CRISPR* atuam como um “cão farejador” que identifica a região do DNA que a tesoura deve cortar.

A edição genética é resultado de um corte na fita dupla do DNA na região de interesse, produzindo uma quebra em um gene alvo. Resumidamente, é isso que *ZFN*, *TALEN* e *CRISPR-Cas9* fazem.

No entanto, cada uma das técnicas possui suas limitações. As técnicas *ZFN* e *TALEN* utilizam proteínas como “cão farejador”. Essas proteínas são as sequências de aminoácidos que reconhecem trincas de nucleotídeos (no caso de *ZFN*) e pares de nucleotídeos



A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) é composta por pesquisadores doutores das mais diversas áreas, responsáveis por avaliar a liberação de organismos geneticamente modificados. As decisões tomadas pela CTNBio possuem caráter técnico científico, levando em conta todo o processo biotecnológico utilizado para o desenvolvimento de um novo produto. As reuniões são públicas e suas atas divulgadas para a sociedade. (<http://ctnbio.mcti.gov.br/a-ctnbio>)



tídeos (no caso de TALEN). O “cão” utilizado pelo complexo CRISPR-Cas9 é uma pequena sequência de RNA, o sgRNA (do inglês, *single guide RNA*). O RNA é mais simples de ser produzido e entregue a uma célula do que as proteínas.

Uma limitação da técnica *CRISPR-Cas9* é que o “cão farejador” (sgRNA) pode reconhecer sequências que não são as de interesse, gerando os *off targets*, isto é, alterações em regiões do DNA que não eram alvo da edição genética. Para reduzir a chances de ocorrerem *off targets*, diversos estudos têm sido conduzidos e novas proteínas *Cas9* (de diferentes bactérias), que geram menos *off targets*, têm sido identificadas. Além disso, alguns laboratórios têm desenvolvido modificações na *Cas9* para aumentar a especificidade da edição genética dessa técnica.

Panorama da edição genética no mundo

Pesquisadores dos Estados Unidos foram os principais responsáveis por desvendar e comprovar a aplicabi-

lidade da técnica *CRISPR* em diferentes organismos. Entretanto, a China tem se destacado nas pesquisas e desenvolvimento de novas variedades vegetais, empregando a edição genética. Em 2013, o laboratório liderado pela Dr^a Caixia Gao, foi o primeiro a usar a técnica em culturas agrícolas. O protocolo utilizado por Gao para editar geneticamente culturas de trigo e arroz foi publicado na revista *Nature*, permitindo a edição genética de trigo por *CRISPR* sem a necessidade de um DNA exógeno. Uma das variedades de trigo melhorada por Gao, resistente a doenças, está em fase de desenvolvimento nos Estados Unidos.

No Brasil, as técnicas de edição genética, que incluem *CRISPR*, são mencionadas como TIMP (Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão) desde janeiro de 2018, denominação atribuída pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) e incluída na Resolução Normativa nº 16 (RN16).

A RN16 estabelece que empresas e instituições que estiverem desenvolvendo um produto ou processo por meio de TIMP submetam uma carta-consulta para que a CTNBio avalie se o produto deve seguir a regulamentação de OGM ou se poderá ser registrado como um produto de melhoramento convencional ou mutagênese. Outras técnicas, que não promovem diretamente edição genética (não cortam o DNA) também estão incluídas no conceito de TIMP, como o caso da técnica de RNA interferente (RNAi), capaz de diminuir a expressão de um gene alvo (silenciar) sem que haja modificação no DNA.

A utilização de RNAi tem recebido destaque, a exemplo das variedades de maçãs e batatas que não escurecem. Seguindo uma estratégia semelhante, o departamento de agricultura dos Estados Unidos (*USDA* na sigla em inglês) determinou que plantas geneticamente editadas não precisariam passar pelo processo de regulamentação exigido aos OGM, desde que a característica inserida também possa ser introduzida por meio de melhoramento genético convencional ou mutagênese. Diferentemente, a corte de justiça da União Europeia (UE) determinou que os produtos gerados por edição genética permanecem sujeitos às mesmas regras que se aplicam aos OGM. O resultado de decisões como essa, pode elevar os custos no desenvolvimento de produtos, dificultando a participação de universidades e pequenas empresas. Diante disso, pesquisadores da UE estão preocupados com o impacto da regu-

Status de regulamentação associada às plantas editadas geneticamente

Países com posicionamento público

	Avaliação caso a caso podendo seguir regulamentação associada ao melhoramento convencional ou mutagênese	Atribui às plantas editadas geneticamente a mesma análise conferida aos OGM
Argentina	●	
Brasil	●	
Canada	●	
Chile	●	
Colômbia	●	
Estados Unidos	●	
Israel	●	
União Europeia		●

Produtos agrícolas geneticamente editados por CRISPR ou TALEN

Isentas da regulamentação exigida para os OGM pelo USDA (após 2016)

Parecer USDA	Produto	Característica
13/04/2016	Cogumelo Paris	Não escurece quando cortado
18/04/2016	Milho	Maior teor de amilopectina
15/11/2016	Batata	Não escurece quando cortada
02/12/2016	Batata	Não escurece quando cortada
29/08/2017	Falso linho	Maior teor de ômega-3
16/10/2017	Soja	Tolerância à seca e salinidade
25/11/2017	Alfafa	Maior digestibilidade
12/01/2018	Milho	Resistência a fungo
19/03/2018	Milho	Ganho de produtividade
20/03/2018	Trigo	Maior teor de fibras
14/05/2018	Tomate	Maior facilidade de colheita
06/08/2018	<i>Pennycress - Thlaspi arvense L</i>	Melhora na qualidade do óleo
07/11/2018	Falso linho	Maior teor de ômega-3

lamentação no avanço dos estudos em biotecnologia na Europa. Em resposta, a comunidade científica de treze países, entre eles Brasil, Estados Unidos, Canadá e Austrália, assinou um posicionamento em defesa de tecnologias que poderão contribuir com a produção de alimentos. De modo geral, o consenso entre os cientistas é que o produto final é que deve ser regulado e não o processo pelo qual foi desenvolvido. Dessa forma, com exceção da UE, alimentos identificados como OGM continuam a ser regulados pelas leis de biossegurança, enquanto os produtos decorrentes de mutações direcionadas (como é o caso das técnicas de edição genética), são submetidos à consulta prévia de comitês científicos, habilitados a analisar as técnicas pelos quais foram desenvolvidos e as características dos produtos finais. Com base nas informações, o comitê avalia se o resultado das técnicas aplicadas resulta em um OGM. Em caso negativo, seguirá pela mesma regulamentação que os demais submetidos a outras técnicas de melhoramento genético.

Em abril de 2016 foi liberado para comercialização, nos Estados Unidos, o primeiro organismo geneticamente editado pela técnica CRISPR. O fungo *Agaricus bisporus* (mais conhecido como cogumelo Paris), teve um dos seis genes responsáveis pela enzima polifenoloxidase (a mesma que faz a maçã escurecer) modificado. Dessa forma a ação da enzima foi reduzida, levando mais tempo para o cogumelo escurecer. Esse foi o primeiro organismo editado geneticamente a não passar pela mesma regulamentação exigida aos OGM.



Produtos agrícolas desenvolvidos por edição genética

Um cogumelo que não escurece ao ser cortado, foi o primeiro produto desenvolvido pela técnica *CRISPR* disponibilizado no mercado após análise do *USDA* em 2016. Na China, desde 2013 várias plantas têm sido editadas usando *CRISPR*, entre elas, variedades de trigo, arroz e milho. Seguindo esse mesmo caminho, empresas e universidades estão desenvolvendo produtos agrícolas geneticamente editados e submetendo-os à consulta no *USDA*. É o caso do milho ceroso, desenvolvido a partir da deleção de um gene por *CRISPR*. O produto não foi classificado como OGM pelo *USDA* em 2016. Em 2018, ele foi a primeira planta editada avaliada pela CTNBio no Brasil e recebeu parecer semelhante ao do *USDA*.

Considerações finais

A edição genética como conhecemos hoje, é resultado de **grandes avanços em técnicas de biologia molecular**, permitindo realizar modificações em poucos nucleotídeos de um ou mais genes. As possibilidades de aplicações dessa estratégia na produção de alimentos são inúmeras, incluindo variedades vegetais resistentes a doenças, tolerantes à seca, com benefícios nutricionais e alternativas que ainda nem imaginamos. No entanto, é preciso sempre lembrar que ainda que as técnicas sejam inovadoras, representam parte das ferramentas que o melhoramento genético vem incorporando ao longo da evolução da história da agricultura. Tal contextualização se faz necessária para que a ciência possa continuar se desenvolvendo e entregando produtos para atender aos desafios da humanidade.



Referências bibliográficas

- ALZATE-MARIN, A. L. et al. Seleção Assistida por Marcadores Moleculares Visando ao Desenvolvimento de Plantas Resistentes a Doenças, com Ênfase em Feijoeiro e Soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 333–342, 2005.
- AUSTRALIAN GOVERNMENT, D. OF H. Updating Gene Technology Regulation in Australia. 2016.
- Department of health, Australian government. Legislative and Governance Forum on Gene Technology Communique. n. October, p. 1–3, 2018.
- CALLAWAY, E. Gene Editing. EU law deals blow to CRISPR crops. **Nature**, v. 560, p. 1, 2018.
- CARROLL, D. A CRISPR Approach to Gene Targeting. **Molecular Therapy**, v. 20, n. 9, p. 1658–1660, 2012.
- CEASAR, S. A. et al. Insert, remove or replace: A highly advanced genome editing system using CRISPR/Cas9. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 9, p. 2334–2344, 2016.
- DUENSING, N. et al. Novel Features and Considerations for ERA and Regulation of Crops Produced by Genome Editing. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 6, n. June, p. 1–16, 2018.
- FSANZ. Preliminary report: Food derived using new breeding techniques. **Food standards australia new zealand**, n. August, p. 17, 2018.
- GAJ, T.; GERSBACH, C. A.; BARBAS, C. F. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 7, p. 397–405, 2013.
- GAO, C. The future of CRISPR technologies in agriculture. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 19, n. 5, p. 275–276, 2018.
- GOVINDAN, G.; RAMALINGAM, S. Programmable Site-Specific Nucleases for Targeted Genome Engineering in Higher Eukaryotes. **Journal of Cellular Physiology**, v. 231, n. 11, p. 2380–2392, 2016.
- HEATHER, J. M.; CHAIN, B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. **Genomics**, v. 107, n. 1, p. 1–8, 2016.
- JAGANATHAN, D. et al. CRISPR for Crop Improvement: An Update Review. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. July, p. 1–17, 2018.
- LI, W. et al. Simultaneous generation and germline transmission of multiple gene mutations in rat using CRISPR-Cas systems. **Nature Biotechnology**, v. 31, n. 8, p. 684–686, 2013.
- LIANG, Z.; CHEN, K.; ZHANG, Y.; et al. Genome editing of bread wheat using biolistic delivery of CRISPR/Cas9 in vitro transcripts or ribonucleoproteins. **Nature Protocols**, v. 13, n. 3, p. 413–430, 2018.
- LIANG, Z.; CHEN, K.; YAN, Y.; et al. Genotyping genome-edited mutations in plants using CRISPR ribonucleoprotein complexes. **Plant Biotechnology Journal**, v. 16, n. 12, p. 2053–2062, 2018.
- MALZAHN, A.; LOWDER, L.; QI, Y. Plant genome editing with TALEN and CRISPR. **Cell and Bioscience**, v. 7, n. 1, p. 1–18, 2017.
- MEASURES, C. ON SANITARY AND PHYTOSANITARY. International statement on agricultural applications of precision biotechnology. **World trade organization**, n. October, p. 2, 2018.
- OSAKABE, Y.; OSAKABE, K. Genome editing with engineered nucleases in plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 56, n. 3, p. 389–400, 2015.
- PAUWELS, K. et al. Engineering nucleases for gene targeting: Safety and regulatory considerations. **New Biotechnology**, v. 31, n. 1, p. 18–27, 2014.
- SHAN, Q. et al. Genome editing in rice and wheat using the CRISPR/Cas system. **Nature Protocols**, v. 9, n. 10, p. 2395–2410, 2014.
- SUN, Y. et al. Generation of High-Amylose Rice through CRISPR/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis of Starch Branching Enzymes. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. March, p. 1–15, 2017.
- WALTZ, E. Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation. **Nature**, v. 532, n. 7599, p. 293–293, 14 abr. 2016.
- WALTZ, E. With a free pass, CRISPR-edited plants reach market in record time. **Nature Biotechnology**, v. 36, n. 1, p. 6–7, 2018.
- WILLIAMS, E. E. GENE EDITING : BIOTECHNOLOGY BREAKTHROUGHS AND CHALLENGES. **The national agricultural law center**, 2018.
- WOLT, J. D.; WANG, K.; YANG, B. The Regulatory Status of Genome-edited Crops. **Plant Biotechnology Journal**, v. 14, n. 2, p. 510–518, 2016.

WOLT, J. D.; WOLF, C. Policy and Governance Perspectives for Regulation of Genome Edited Crops in the United States. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. November, p. 1606, 2018.

YIN, K.; GAO, C.; QIU, J. L. Progress and prospects in plant genome editing. **Nature Plants**, v. 3, n. October, p. 1–6, 2017.

ZHANG, Y. et al. Applications and potential of genome editing in crop improvement. **Genome Biology**, v. 19, n. 1, p. 210, 30 dez. 2018.

ZONG, Y. et al. Precise base editing in rice, wheat and maize with a Cas9-cytidine deaminase fusion. **Nature Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 438–440, 2017.



Histórico e inovação do
melhoramento genético

plantas

Ferramentas moleculares que prometem
acelerar prática milenar

Este material foi elaborado com o objetivo de contribuir para o entendimento da edição genética de plantas, trazendo os marcos do melhoramento genético e contextualizando as principais técnicas que prometem revolucionar a agricultura nos próximos anos.

Conteúdo e revisão técnica

Adriana Brondani · *PhD em bioquímica*

Paulo Camargo · *PhD em biologia molecular*

Projeto gráfico

Danilo Pegorara · *Designer gráfico*

Projeto editorial

Frederico Franz · *Jornalista*

Apoio técnico

Sulamita Franco · *PhD em genética*



A Associação Brasileira de Sementes e Mudanças (ABRASEM) é a representação institucional das associações estaduais e entidades de todo o setor de sementes do Brasil. Seu objetivo é reunir, assistir e orientar por meio da coordenação e gerenciamento de projetos de interesse das associadas e do agronegócio em âmbito nacional.



O Conselho de Informações sobre Biotecnologia (CIB) é uma organização não governamental e uma associação civil sem fins lucrativos e sem conotação político-partidária. Seu objetivo é divulgar informações técnico-científicas sobre a biotecnologia, aumentando a familiaridade de diversos setores da sociedade com o tema.

