

Agricultura de uma Nova Geração

Автор(и): Нора Иванова, Редактор Растителна Защита /РЗ/

Дата: 19.10.2020 Брой: 10/2020



Ano Internacional da Fitossanidade 2020

O Prêmio Nobel de Química de 2020 foi concedido a Emmanuelle Charpentier e Jennifer A. Doudna pelo "desenvolvimento de um método de edição do genoma". Nos últimos 10 anos, esse método vem entrando com sucesso em vários campos da ciência e está gradualmente conquistando o mundo como uma oportunidade para resolver problemas intratáveis.

A revolução genética – o método de edição do genoma CRISPR/Cas9 é uma intervenção precisa no nível do DNA que é capaz de mudar o código da vida em apenas algumas semanas. A tesoura genética, como essa tecnologia é chamada, terá no futuro um enorme impacto nas ciências da vida, transformando completamente os métodos de tratamento na medicina para doenças perigosas e hereditárias.

Mas não apenas na medicina; na agricultura também esse método revela novos horizontes de pesquisa que mudarão completamente nossa atitude em relação aos animais e às culturas agrícolas.

Já não é mais uma utopia, um mundo no qual as plantas destinadas a alimentar a população serão capazes de suportar mudanças climáticas extremas e serão resistentes a pragas cada vez mais agressivas.

A ciência agrícola conseguirá criar uma era mais responsável e segura para os consumidores, com uma cadeia alimentar saudável e acessível que funcionará com menos recursos e poupará o meio ambiente?

Uma agricultura de nova geração

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), cerca de 40% das culturas vegetais que servem como alimento básico para a população são destruídas anualmente por várias doenças e pragas das plantas. Isso é particularmente verdadeiro em regiões pobres onde a agricultura é o principal meio de subsistência das pessoas; a falta de alimentos de qualidade e acessíveis leva a graves consequências econômicas e sociais. Um fator adicional que contribui para o comprometimento das reservas alimentares globais é a globalização do comércio, que leva à disseminação descontrolada de espécies invasoras.

O ambiente fitossanitário deteriorado, causado pelas mudanças climáticas, atividades humanas e uso inadequado de pesticidas, também é um fator-chave não apenas para o aumento de doenças e pragas perigosas que afetam as plantas cultivadas, mas também para a redução da biodiversidade. Portanto, nos últimos anos, os setores público e privado vêm investindo cada vez mais em iniciativas de manejo integrado de pragas, pesquisas científicas e tecnologias inovadoras que se concentram acima de tudo não nas consequências, mas nas causas e nas possibilidades de sua prevenção.

A genética vegetal está fornecendo uma gama cada vez mais rica de opções de prevenção no campo da agricultura. O objetivo da modificação genética é obter linhagens de plantas agrícolas com vantagens sobre as clássicas: qualidades nutricionais melhoradas (por exemplo, enriquecimento do arroz com caroteno – o precursor da vitamina A); resistência a pragas e doenças; tolerância a herbicidas; maior tolerância à seca ou solos salinos.

Prevenção através da manipulação do genoma – CRISPR/Cas9

Inesperadamente, a resposta para todos esses problemas na ciência agrícola moderna está nas aparentemente minúsculas moléculas de DNA, cujo potencial se revela ilimitado. Já em 1953, os fundamentos da biotecnologia moderna foram lançados com a aplicação em condições laboratoriais de *enzimas de restrição*, que cortam o material genético. Desde então, numerosos métodos diferentes para manipulação do genoma foram introduzidos. O passo revolucionário na genética é a introdução de uma ferramenta que permite a edição rápida e precisa do genoma. CRISPR/Cas ("CRISPR") é emprestado de processos que ocorrem em células bacterianas. É um mecanismo que permite que as bactérias se protejam de ataques virais, consistindo em duas partes – uma impressão única do vírus (codificada no CRISPR) e uma enzima (Cas) que tem a capacidade de cortar as duas fitas do DNA. Quando atacadas por um vírus conhecido, as bactérias usam essa impressão para

direcionar o Cas ao seu material genético. Uma vez cortado, ele é inativado e o ataque viral é prevenido. A alteração resultante pode excluir ou substituir segmentos específicos de DNA, aprimorando ou desativando assim certas características.

Juntamente com as vantagens desse método em campos como farmácia, terapia gênica e tratamento de doenças como HIV, malária, câncer, diabetes, etc., a tecnologia CRISPR está entrando cada vez mais com sucesso na agricultura também.

A edição precisa do genoma é de enorme interesse para o setor agrícola, porque todos sabem quanto tempo e esforço são necessários para criar novas variedades resistentes. Já existem inúmeras culturas com desempenho agrônômico melhorado – arroz, trigo, laranjas, tomates e outras que são resistentes a patógenos; milho que resiste à seca; tomates com maior rendimento. Além dos benefícios para os agricultores, há benefícios para o meio ambiente, pois menos recursos são usados para obter a produção, e o uso de pesticidas é reduzido. O consumidor final também se beneficia, uma vez que trabalhos ativos estão em andamento para melhorar o valor nutricional e a qualidade dos produtos. Por exemplo, é perfeitamente possível controlar a porcentagem de glúten no trigo e alcançar resultados de – 85% menor teor de glúten. E na Ásia, pesquisas estão sendo cada vez mais conduzidas para criar arroz com maior teor de amilase, que decompõe carboidratos complexos e os converte em monossacarídeos como a glicose. A amilase é uma enzima presente na saliva humana e desempenha um papel ativo no metabolismo adequado da glicose do corpo.

Maçãs resistentes ao fogo bacteriano

Um dos estudos mais recentes sobre o método CRISPR/Cas usando *Agrobacterium tumefaciens* foi publicado no Journal of Plant Biotechnology em 2019. A bactéria *Erwinia amylovora*, que causa a doença fogo bacteriano na macieira, induz a infecção no fruto através do efetor DspA/E, que interage com a proteína de suscetibilidade da maçã MdDIPM4. Os cientistas usam CRISPR/Cas9 para criar uma proteína MdDIPM4 defeituosa, que é introduzida na macieira (cv. Gala e Golden Delicious) via *Agrobacterium tumefaciens*. Neste caso, a interação entre o melhoramento clássico usando a bactéria *A. tumefaciens* e os métodos revolucionários na criação de novas variedades é de particular interesse. A bactéria *Agrobacterium tumefaciens* tem a capacidade de transferir DNA para células vegetais. Sua função no processo geral é infectar um grande número de espécies de plantas e induzir a formação de tumores vegetais nos quais ela se desenvolve. Os tumores são na verdade causados por um plasmídeo da bactéria chamado Ti (de *tumor-inducing* em inglês). Uma vez que a planta é infectada, o plasmídeo Ti é transferido da célula bacteriana para uma célula vegetal, integra-se em seu genoma e causa sua transformação maligna. O plasmídeo Ti não é cancerígeno para animais e humanos, e com base nele, vetores são criados para clonagem e expressão de genes estrangeiros em células vegetais. Através de uma combinação dos dois métodos de melhoramento na macieira, um total de 57 linhagens transgênicas com 75% de eficiência de edição foram obtidas. Sete linhagens editadas com perda de função da proteína MdDIPM4 foram expostas ao fogo bacteriano, e os resultados mostraram uma redução significativa na suscetibilidade à doença em comparação com o controle. Os resultados do estudo demonstram o desenvolvimento e aplicação do CRISPR-Cas9 para a criação de maçãs com edição gênica com uma pegada mínima de DNA exógeno.

Trigo – a rainha da modificação genética

No outro extremo do mundo, a seca não é um problema para as culturas agrícolas, e há anos são desenvolvidas variedades resistentes a longos períodos sem uma gota de chuva. No entanto, chuvas prolongadas no Japão frequentemente destroem completamente as colheitas dos agricultores.

Pesquisadores de lá estão trabalhando em uma nova variedade de trigo adequada para regiões com maior precipitação. Com a ajuda do sistema CRISPR-Cas9, eles estão desenvolvendo trigo que em um estágio posterior leva à produção de farinha de maior qualidade. Para seu experimento, os pesquisadores japoneses usam uma variedade de zonas áridas que é sensível à umidade. No caso de chuvas fortes e prolongadas antes da colheita, as sementes frequentemente germinam nas espigas, o que subsequentemente leva a farinha de baixa qualidade para a indústria alimentícia. Aplicando CRISPR-Cas9 via *Agrobacterium*, a equipe cria linhagens de trigo com um gene Qsd1 não funcional, que regula a dormência ou germinação das sementes. Após oito transformações, uma das tentativas revelou-se bem-sucedida. A nova variedade foi cruzada com um trigo do tipo selvagem para obter um mutante sem transgenes. As plantas resultantes foram irrigadas por uma semana e apenas 20-30 por cento germinaram, enquanto quase todas as sementes de trigo comum expostas às mesmas condições germinaram. Neste caso, a edição do genoma e a criação de uma nova variedade de trigo resistente à chuva levaram aos cientistas apenas cerca de um ano. Em comparação, com técnicas convencionais de melhoramento, um desenvolvimento semelhante levaria aproximadamente 10 anos. Na genética clássica, os cientistas usam o método de bombardeamento de partículas (bombardeio de partículas), no qual partículas microscópicas, por exemplo, ouro, são revestidas com DNA. Então, sob alta pressão, as partículas revestidas de DNA devem ser introduzidas na planta receptora. Os resultados desejados são aguardados por anos e nem sempre são tão precisos e previsíveis quanto com a combinação de CRISPR-Cas9 e *Agrobacterium*. Claro, nem toda variedade de trigo responde à infecção com bactérias *Agrobacterium*.

Esse problema foi corrigido por uma equipe de especialistas da Academia de Ciências Agrícolas de Shandong, China, que direcionou com sucesso genes do trigo, optando pelo CRISPR-Cas9 entregue através de *Agrobacterium* – transformação genética. Assim, eles conseguiram melhorar as características de qualidade do trigo usando bactérias para inserções mais precisas do complexo de edição do genoma CRISPR-Cas9.

Tomates – um verdadeiro milagre genético

Uma equipe internacional de cientistas do Brasil, EUA e Alemanha criou cerca de um ano atrás um tomate usando a edição do genoma CRISPR-Cas9. A nova variedade de tomate, que tem um teor aumentado de licopeno, foi desenvolvida a partir de uma planta selvagem e apenas dentro de uma única geração.

Os pesquisadores usaram como espécie parental o *Solanum pimpinellifolium* – um tomate selvagem da América do Sul e ancestral do tomate cultivado moderno, cujos frutos são do tamanho de ervilhas e o rendimento é mínimo, mas são altamente aromáticos e seu teor de licopeno é impressionante.

A equipe internacional de especialistas modificou o tomate selvagem básico aplicando a edição do genoma CRISPR-Cas9, com as plantas resultantes carregando pequenas modificações genéticas em seis genes que

são fundamentais para a domesticação do tomate.

O tomate modificado tem frutos três vezes maiores que o tipo selvagem. Isso corresponde ao tamanho dos tomates cereja. Tem 10 vezes mais frutos, e seu formato é oval, ao contrário dos frutos redondos selvagens (uma característica importante, porque em caso de chuva os frutos redondos racham mais rápido que os ovais). As plantas também têm um hábito de crescimento mais compacto. A nova variedade de tomate tem um teor muito alto do pigmento carotenóide licopeno, que é um poderoso antioxidante e protege o corpo do estresse oxidativo. Assim, a planta selecionada tem o dobro do conteúdo desse pigmento benéfico em comparação com seu parente selvagem e cinco vezes mais que seus equivalentes modernos – tomates cereja.

De acordo com um artigo publicado em janeiro de 2019 na *Trends in Plant Science*, com as novas técnicas de edição do genoma é possível criar um tomate que compete com algumas das pimentas mais picantes. Os resultados do sequenciamento do genoma completo em tomates mostram que essa cultura vegetal tem os genes para a pungência, mas não possui o mecanismo que permitiria que esses genes se tornassem ativos. Assim, através do CRISPR-Cas9, tomates sintetizando capsaicinoides podem ser criados, afirmam os pesquisadores que atualmente trabalham nesse projeto. O objetivo não é satisfazer o nicho culinário crescente, mas aumentar a produção de capsaicinoides para fins comerciais. A substância ativa nas pimentas picantes (capsaicina) é conhecida por suas propriedades antibióticas e analgésicas e por proteção contra pragas.

O futuro do CRISPR

Apesar das conquistas e oportunidades significativas, existem alguns obstáculos técnicos, legais e éticos para o uso generalizado do CRISPR que ainda precisam ser abordados. Um dos principais problemas técnicos na edição do genoma é que a enzima Cas nem sempre reconhece o alvo com precisão e pode cortar o material de DNA em outros locais indesejados. No entanto, nos últimos dois anos, os pesquisadores vêm desenvolvendo a tecnologia e aumentando a precisão e a taxa de sucesso das edições. Substitutos para o Cas já estão sendo testados que podem cortar apenas uma única base da molécula de DNA ou se ligar a ela sem cortar, regulando assim a atividade dos genes-alvo.

Por enquanto, um sério obstáculo à aplicação do melhoramento inovador na agric