

Iniciativas Genômicas

Aplicações da ciência genômica no melhoramento de plantas para as regiões de várzea do sul do Brasil

Paulo Dejalma Zimmer, Dr.

Professor do Departamento de Fitotecnia
FAEM / UFPel
djzimmer@ufpel.tche.br

Gaspar Malone

Doutorando do Programa de Pós Graduação em
Ciência e Tecnologia de Sementes / FAEM / UFPel
malone@gaspar.com.ar

Fernando Irajá Félix de Carvalho, PhD.

Professor do Departamento de Fitotecnia
FAEM / UFPel
carvalho@ufpel.tche.br

José Fernandes Barbosa Neto, PhD.

Professor do Departamento de Plantas de Lavoura
Faculdade de Agronomia / UFRGS
jfbn@ufrgs.br

Antonio Costa de Oliveira, PhD.

Professor do Departamento de Fitotecnia
FAEM / UFPel
acosta@ufpel.tche.br

Ilustrações cedidas pelos autores



O melhoramento genético de plantas tem contribuído de forma decisiva para o incremento da produção mundial de grãos (BORLAUG, 1983). Entretanto, a necessidade e os desafios para as próximas duas décadas são imensos, o ganho genético para a produtividade está se reduzindo a cada ano e já não acompanha mais o aumento da demanda por alimentos (BORLAUG, 1997; MANN, 1997 e 1999). Atualmente, grandes esforços estão sendo direcionados no sentido de elucidar o potencial genético das espécies cultivadas, objetivando incrementar a produtividade e a qualidade. Para o lançamento de novos cultivares que atendam à demanda crescente por alimentos, os programas de melhoramento de plantas necessitam de grandes mudanças, principalmente no que tange à estrutura, à estratégia e à própria ciência envolvida (STUBER et al., 1999; KOORNNEEF & STAM, 2001). Além do foco na qualidade e na produtividade, o melhoramento genético também pode ser direcionado no sentido de aumentar a adaptabilidade das espécies. Essa também pode ser considerada uma forma de incrementar a produção de alimentos, pois áreas marginais podem ser incorporadas ao sistema produtivo mediante o desenvolvimento de genótipos adaptados. No Sul do Brasil, há cerca de 6,8 milhões de hectares de terras baixas,

caracterizadas por solos hidromórficos, que têm o seu sistema agrícola alicerçado na pecuária extensiva e no plantio do arroz irrigado. A exploração inadequada dessa região, possivelmente associada às dificuldades operacionais, não tem permitido uma apropriada rotação de culturas nem o requerido tempo de pousio, o que favorece a infestação da cultura por espécies daninhas, principalmente o arroz vermelho. A degradação das características físicas do solo provocada pela intensa movimentação de máquinas e equipamentos extremamente pesados também impõe a necessidade de pousio (Figura 1).

Dessa forma, extensas áreas estão sendo inviabilizadas a cada ano, tornando-se, muitas vezes, extremamente árdua a sua recuperação. A busca de alternativas para compor o sistema agrícola regional tem motivado iniciativas importantes nas Universidades Federais de Pelotas e do Rio Grande do Sul (UFPel e UFRGS) e na Embrapa Clima Temperado (PORTO et al., 1998). A inclusão de novas culturas, como a aveia, o milho e o azevém, no sistema agrícola das áreas de várzea tem recebido atenção especial, porém a simples introdução de genótipos não é suficiente para a correção, em função da inexistência de constituições genéticas adaptadas à condição de encharcamento dos locais. Desse modo, há uma grande demanda por iniciativas voltadas para a geração

de variabilidade genética, seleção de constituições genéticas adaptadas às condições do ambiente e aumento da eficiência dos programas de melhoramento de plantas.

Advento das Técnicas Moleculares

Até a década de 70, pouco se conhecia sobre a organização do DNA. A composição dos pequenos segmentos com função conhecida, os genes, era a jóia mais desejada naquela época. Nos últimos anos, com o surgimento das técnicas moleculares, e entre elas a técnica de clonagem molecular, tornou-se possível o isolamento e a purificação de porções genômicas. Esses avanços contribuíram para tornar a molécula de DNA o foco das principais investigações nos últimos anos. A clonagem molecular consiste no isolamento e na multiplicação de moléculas de DNA idênticas, e compreende, pelo menos, dois estágios importantes: primeiro, o fragmento do DNA de interesse, chamado de *inserto*, é ligado a uma outra molécula de DNA, denominada *vetor*, para formar o que se chama de DNA recombinante; segundo, a molécula do DNA recombinante é introduzida numa célula hospedeira compatível, num processo chamado transformação bacteriana. A célula hospedeira que adquiriu a molécula do DNA recombinante passa, então, a ser chamada transformante ou célula transformada. Atualmente, as fronteiras da Tecnologia do DNA recombinante, principalmente para fins comerciais, parecem ser ilimitadas. Além dos reflexos diretos, a tecnologia do DNA recombinante proporcionou avanços em todas as áreas da bioquímica, da fisiologia e da genética. Esses avanços permitiram a caracterização, a identificação e a clonagem de uma série de genes de enzimas, que se tornaram ferramentas decisivas para o surgimento de técnicas como a de marcadores moleculares e de sequenciamento de DNA, o que con-



Figura 1 - Sistema de preparação do solo para plantio de arroz pré-germinado em solos de várzea, utilizando máquinas extremamente pesadas em solos inundados. Essa associação afeta negativamente a estrutura física do solo. Cortesia Prof. Silmar Peske.

tribuiu para a elucidação de importantes vias de biossíntese.

No que tange aos desafios para tornar eficiente o melhoramento de plantas e para incrementar a produção mundial de grãos, várias ferramentas moleculares podem ser incorporadas aos programas de melhoramento de plantas com o objetivo de otimizar a obtenção de genótipos superiores, por exemplo, a transgenia (YE et al., 2000), a seleção assistida por marcadores (FRARY et al., 2000), a mutação induzida (MALUSZYNSKI, 1998) e a genômica (LIU, 1998; MCCOUCH, 2001).

A busca por soluções para diversificar o sistema agrícola nas áreas de várzea do sul do Brasil passa pela elucidação dos mecanismos fisiogenéticos envolvidos na tolerância dos cereais ao encharcamento. Embora já tenham sido relatadas (DANTAS et al., 2001), algumas respostas à deficiência de oxigênio no solo provocada pelo excesso de água (encharcamento), ainda permanecem muitas dúvidas relacionadas com as interações genéticas que facultam algumas espécies ou variedades a suportarem solos com hipoxia decorrente do excesso de água. A incorporação de tecnologias moleculares e a formação de melhoristas treinados para selecionar genes poderão se refletir em grandes ganhos de eficiência nos programas de melhoramento de plantas.

Sintenia e Genomas Modelos

A sintenia é caracterizada pela conservação na ordem e no conteúdo de genes, ou grupos gênicos, entre espécies relacionadas. Essa característica também é denominada colinearidade, e poderá ser altamente informativa para estudos comparativos de função, ação e regulação gênica entre diferentes genomas (Figura 2). Embora não seja uma condição estável, pois a sintenia pode ser perdida no decorrer da evolução, vários trabalhos evidenciam a importância das regiões cromossômicas conservadas para estudos genéticos comparativos (BENNETZEN et al., 1998; GALE & DEVOS, 1998; DEVOS et al., 1999; FEUILLET & KELLER, 2002).

A sintenia é bastante estudada na família *Brassicaceae* e na família *Gramineae*, atualmente denominada *Poaceae*. Essa família é constituída por muitas espécies, entre elas algumas das principais espécies agrícolas como milho, arroz, trigo, sorgo, cevada, centeio e aveia (cereais). Além das variações fenotípicas e genotípicas existentes entre os cereais, há muitas variações na estrutura desses genomas. A variação pode ser no número de cromossomos, no nível de ploidia e no tamanho do genoma - estimado em pares de



Figura 2 – Sintenia entre os genomas do arroz, milho, cevada e trigo. As informações provenientes do genoma menor podem ser utilizadas para guiar ações no sentido de localizar, mapear e clonar genes em genomas maiores. Os pontos em amarelo indicam o posicionamento de alguns genes e os números indicam o cromossomo (Modificado de GALE & DEVOS, 1998).

bases (pb), podendo existir genomas muito grandes como o genoma do trigo, com cerca de 16 bilhões de bases, como também pode ocorrer genomas muito pequenos, como é o caso do do arroz, com cerca de 430 milhões de bases. A estratégia atual está sendo estudar e caracterizar os sistemas gênicos em genomas pequenos (arabidopsis e arroz) e, considerando a sintenia existente, inferir sobre os genomas grandes (milho – 2 500 Mpb, trigo – 16 000 Mpb e cevada - 4 800 Mpb, por exemplo).

Características de um Genoma Modelo

A presença de determinadas características numa espécie pode torná-la altamente atraente para a ciência. Sob esse enfoque, as características mais atraentes numa espécie vegetal, as quais poderão contribuir para que ela se torne um modelo, estão relacionadas com a duração do ciclo, com o número de

sementes produzidas, com o tamanho do seu genoma, com a capacidade de multiplicação em diferentes ambientes, com a facilidade de manipulação da polinização (direcionamento de cruzamentos), com a capacidade de cultivo *in vitro* e com a disponibilidade de informações já existentes (banco de dados para a espécie). Essas características geralmente definem a facilidade de se obterem resultados, bem como o seu volume e sua qualidade. A primeira espécie vegetal utilizada como modelo para estudos genéticos foi a ervilha (*Pisum sativum* L.), quando Gregor Mendel publicou os resultados dos primeiros estudos genéticos, no ano de 1865. É lógico que naquela época Mendel não considerou os critérios utilizados atualmente, mas certamente escolheu a ervilha pela familiaridade que ele tinha com o cultivo daquela espécie. Embora as leis de Mendel não tenham sido validadas até o seu redescobrimto, no início do século XX, cons-

tituíram a base científica dos estudos realizados até hoje. Na história recente da Biologia de Plantas, uma outra espécie apresentava muitas características atraentes e surgia como modelo entre as dicotiledôneas; tratava-se da *Arabidopsis thaliana*. Essa espécie vegetal é membro da família *Brassicaceae*, a qual inclui espécies cultivadas como o repolho, o rabanete e a canola. Embora a *arabidopsis* não possua importância agrônômica, essa espécie apresenta vantagens importantes para a pesquisa básica em genética e biologia molecular. Além disso, ou como consequência disso, essa espécie possui o maior volume de informação disponível dentre todos os vegetais. No entanto, o modelo genético *Arabidopsis thaliana* limitava-se principalmente ao sistema genético das dicotiledôneas, quando um complemento para as monocotiledôneas começou a ser procurado. Nos últimos anos, está sendo dispensada muita atenção a uma outra espécie, o arroz (*Oryza sativa* L.), por ele possuir também bons atributos para se tornar um modelo genético vegetal. Embora seu genoma seja pouco maior, cerca de três vezes maior que o genoma de *Arabidopsis thaliana* L., ainda assim é cerca de 40 vezes menor do que o genoma do trigo (*Triticum aestivum* L.). Entretanto, a estratégia de direcionar os esforços para tornar o arroz um genoma modelo está alicerçada no interesse de se obter um modelo entre as gramíneas, principalmente aquelas produtoras de grãos, pois, praticamente, todas as ações dos programas de melhoramento de plantas estão voltadas para produtividade, resistência a moléstias e adaptabilidade. Outro fator fundamental no interesse de tornar o arroz um genoma modelo é a existência de sintenia ou colinearidade entre os genomas dessa família. Atividades voltadas para a identificação e a clonagem de genes com a utilização de genomas modelos, como o arroz, são bem mais eficientes do que em genomas grandes.

Portanto, atualmente a estratégia mais racional será estudar o arroz, identificar, clonar e caracterizar seus genes e, quando tudo estiver mensurado, atingir os genomas mais complexos, como os do trigo e do milho. Dessa forma, os programas de melhoramento de plantas poderão aumentar em muito sua eficiência.

A particularidade que o arroz possui, de ser cultivado sob irrigação por inundação (várzeas) e sequeiro (terras altas), também torna essa espécie modelo para o entendimento dos mecanismos que controlam a adaptabilidade das plantas. O Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da UFPel está buscando, mediante a utilização de tecnologias modernas, o entendimento do sistema de raízes do arroz (modelo genético). A identificação de mecanismos morfofisiológicos e os respectivos controles genéticos permitirão a identificação e a clonagem dos genes envolvidos. A sintenia e a utilização de ferramentas genômicas adequadas conduzirão à rápida utilização desse conhecimento para o desenvolvimento e lançamento de genótipos superiores, de diversas espécies que poderão ser adaptadas aos solos encharcados do sul do Brasil.

Seqüenciamento de Genomas

Os primeiros passos para o seqüenciamento de DNA foram dados por Sanger, em 1977, com o desenvolvimento do método de seqüenciamento manual conhecido também como método da cadeia interrompida. Hoje o método de Sanger baseia-se na amplificação, por PCR, de fragmentos de DNA clonados previamente dentro de vetores conhecidos. Dessa forma, oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), complementares à seqüência do vetor, são utilizados para amplificar o inserto do DNA a ser seqüenciado. A metodologia foi chamada de “cadeia interrompida” em função de que são utilizados dNTPs (deoxi-Nucleotídeos Trifosfatos) modificados, os ddNTPs (dideoxi-Nucleotídeos Trifosfatos), os quais, quando

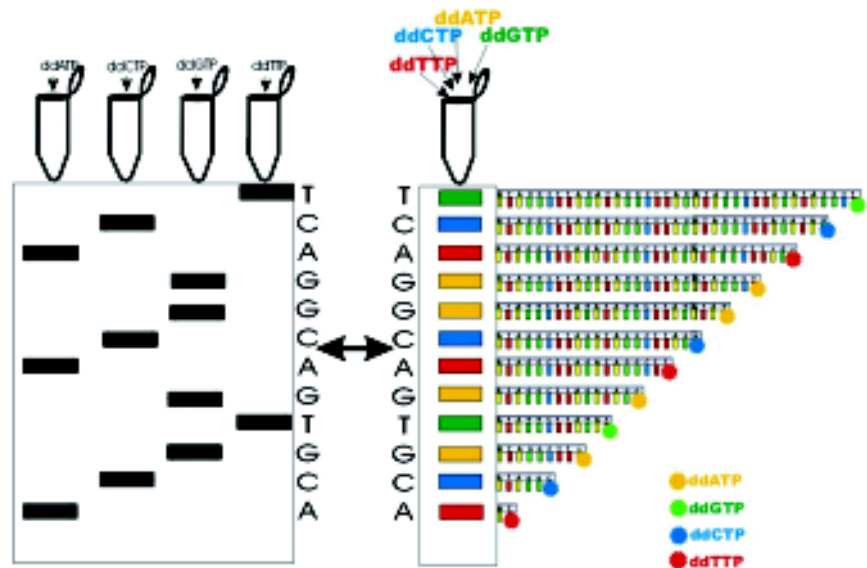


Figura 3 – Esquema representativo do método de seqüenciamento desenvolvido por Sanger (A) e do método de seqüenciamento automatizado (B). Consulte o texto para conferir os detalhes de cada método.

incorporados pela enzima *Taq* polimerase (a enzima que amplifica o DNA), não permitem a inclusão do nucleotídeo seguinte por não apresentarem a hidroxila no carbono 3 da dideoxi-ribose do nucleotídeo terminador. Portanto, a síntese da molécula de DNA pára nesse ponto (Figura 3).

Pelo método de Sanger, o processo de seqüenciamento é realizado em quatro reações independentes. Em cada uma delas é adicionado um ddNTP diferente (ddATP, ddCTP, ddGTP e ddTTP), geralmente marcados radiativamente com ^{32}P . Na cópia de cada fita de DNA, a partir do molde, as moléculas são sintetizadas até que incorporem o nucleotídeo terminador (ddNTP). O acúmulo de moléculas terminadas numa mesma base possibilita sua visualização no gel. A geração aleatória de moléculas terminadas nas bases distintas de uma fita molde de DNA permitirá o estabelecimento da seqüência de nucleotídeos do referido molde. A leitura da seqüência de bases é realizada mediante a separação, num gel de poliacrilamida de alta resolução, dos fragmentos amplificados por PCR. Nesse tipo de técnica, é possível identificar cerca de 200 a 300 nucleotídeos. A Figura 3 apresenta um esquema sintetizado dessa metodologia.

Na última década, o surgimento dos seqüenciadores automáticos, aliado à elevada capacidade de processar informações que a informática proporcionou, revolucionou a genômica, dando origem a bioinformática. O seqüenciamento automático mantém o mesmo princípio do método de seqüenciamento manual proposto por Sanger, mas a possibilidade de utilizar ddNTPs marcados fluorescentemente com cores distintas para cada um deles (ddCTP, ddGTP, ddATP e ddTTP) permitiu automatizar o processo (veja Figura 3). Outra grande vantagem do seqüenciamento automático é a incorporação de metodologias *lasere* e programas computacionais que fazem a leitura dos resultados. As moléculas fluorescentes utilizadas nos ddNTPs, quando sensibilizadas pelo *laser*, emitem um comprimento de onda, que é capturada por uma câmera acoplada ao seqüenciador. A informação é processada e transformada em seqüências nucleotídicas por *softwares* adequados.

Devido à baixa capacidade de produção proporcionada pelo método de Sanger, as primeiras seqüências nucleotídicas foram geradas para estudos pontuais, como o estabelecimento da seqüência de alguns genes e de pequenas regiões cromossômi-



Figura 4 – Detalhes de um exemplar de *Arabidopsis thaliana* L. cultivado em laboratório. Cortesia Dra. M. E. Alvarez. CIQUIB – CONICET, Universidad Nacional de Córdoba – Argentina.

cas. À medida que foram desenvolvidos os seqüenciadores de nucleotídeos automatizados, a capacidade de produção de seqüências foi aumentada muito rapidamente. Em função disso, surgiram, mediante a associação de grupos de pesquisa, várias iniciativas voltadas para o seqüenciamento de alguns genomas. Os primeiros esforços foram direcionados para alguns microorganismos e, em seguida, para a *Arabidopsis thaliana* (The Arabidopsis Genome Initiative*, 2000) e para a *Drosophila melanogaster* (ADAMS et al., 2000), dois organismos utilizados como modelo na biologia. Na seqüência, apresentaremos o que já foi realizado com o intuito de gerar informações genéticas das principais espécies, com vistas ao melhoramento vegetal.

Arabidopsis thaliana - o genoma da *Arabidopsis* (125 milhões de nucleotídeos – 125 Mpb) foi seqüenciado por uma associação internacional de pesquisadores cha-

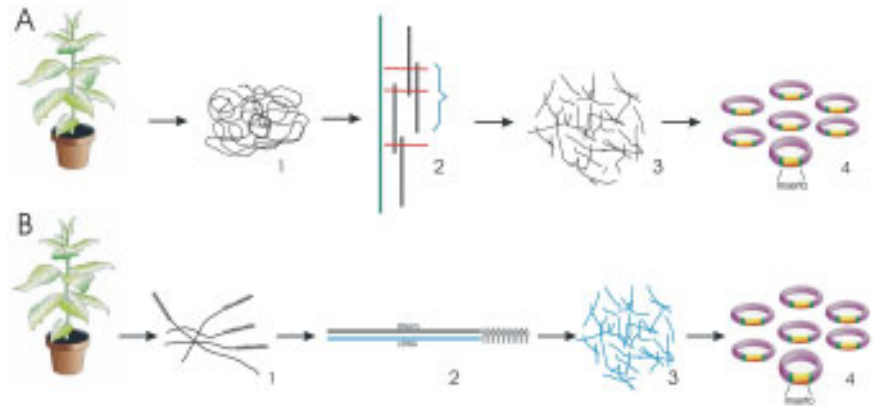


Figura 5 – Esquema representativo das principais etapas na geração de bibliotecas de seqüenciamento. A – Para seqüenciamento estrutural via construção de biblioteca BAC (*Bacterial Artificial Chromosomes*). 1 – DNA genômico; 2 – Alinhamento de fragmentos de 100 a 200 kb em mapa físico (Biblioteca BAC); 3 – Fragmentação individual dos BACs; 4 – Subclonagem de fragmentos entre 2 e 5 kb. B – Para seqüenciamento de ESTs (*Expressed sequence tags*) ou do transcriptoma. 1 – Extração de RNA mensageiro; 2 – Síntese reversa utilizando RT-PCR; 3 – Síntese de cDNA dupla fita; 4 – Clonagem dos cDNAs.

mada de Iniciativa Genoma da *Arabidopsis* (The Arabidopsis Genome Initiative*, 2000). A seqüência, o mapa e as anotações disponíveis atualmente são resultado de esforços conjuntos do TIGR (The Institute for Genomic Research), MIPS (Munich Information Center for Protein Sequences) e TAIR (The Arabidopsis Information resource). Veja uma foto dessa espécie vegetal observando a Figura 4.

Arroz (*Oryza sativa* L.) – Foram empregados esforços públicos e privados para seqüenciar essa espécie. O primeiro esforço privado foi realizado pela Monsanto (PENNISI, 2000). Mais tarde, os resultados gerados seriam somados aos resultados do IRGSP (*International Rice Genome Sequencing Project*). O segundo esforço privado, uma associação entre duas empresas, a Myriad Genetics e a Syngenta, utilizou o método *whole genome shotgun*, e não acrescentou resultados significativos ao conjunto de dados disponibilizados pelos outros projetos (GOFF et al., 2002). Foram implementados também dois esforços públicos para o seqüenciamento do arroz. O primeiro deles, o Projeto Internacional de Seqüenciamento do Genoma do Arroz (IRGSP – International Rice Genome Sequencing Project), teve como objetivo seqüenciar

a subespécie *japonica*. Essa associação teve início no ano de 1997, em uma reunião do Simpósio Internacional de Biologia Molecular de Plantas realizado em Singapura. Naquela ocasião, o objetivo da comunidade científica era socorrer o idealizador do projeto de seqüenciamento estrutural do arroz, o RGP (Rice Genome Project) do Japão. O segundo esforço público foi liderado pela Academia Chinesa de Ciências (Chinese Academy of Sciences) de Beijing, China. Esse projeto iniciou-se em abril de 2000 e, dois anos mais tarde, seus resultados foram publicados pela revista Science (YU et al., 2002). A grande distinção estabelecida entre as subespécies seqüenciadas por esses dois esforços públicos foi em relação à importância econômica e geográfica que elas apresentam. A subespécie seqüenciada pelo grupo liderado pelos japoneses, *spp japonica*, é amplamente cultivada no Japão, nos Estados Unidos, na Coreia do Sul e em parte da China. Por outro lado, a subespécie seqüenciada pelos chineses, *spp indica*, é bastante cultivada na China e no Sudeste Asiático, bem como no Sul do Brasil. Além disso, as estratégias de seqüenciamento utilizadas pelos dois grupos foram distintas; enquanto o grupo dos chineses focava a anotação de genes, pois utilizou a estratégia *whole genome shotgun*, o grupo liderado pelo RGP



Figura 6 – Detalhes de uma lavoura de arroz irrigado do cultivar BRS 7 “Taim”. Cortesia Prof. Silmar Peske.



Figura 7 – Detalhes de uma lavoura de trigo (*Triticum aestivum*). Cortesia Prof. Silmar Peske.

focou, além da anotação dos genes, a geração de informações precisas ao nível de estruturação e organização do genoma, pois utilizou a técnica de seqüenciamento estrutural via construção de bibliotecas BAC (*Bacterial Artificial Chromosomes*) (Figura 5 A). Veja uma foto dessa espécie vegetal observando a Figura 6.

Trigo (*Triticum aestivum*) – os esforços para determinar a seqüência de nucleotídeos do trigo



Figura 8 - Detalhes de uma lavoura de cevada (*Hordeum vulgare*), safra 2003, da Linhagem CEV 97043 da propriedade do Produtor Adelar Crespi.

depararam-se com duas grandes barreiras. A primeira delas se refere ao tamanho do genoma, que é, aproximadamente, de 16 bilhões de nucleotídeos (16.000 Mpb) - cerca de 40 vezes maior que o genoma do arroz. A segunda delas é que o seu genoma é diferente do do arroz e da arábida, ambos diplóides, enquanto o trigo é hexaplóide. Esses impedimentos impuseram uma estratégia preliminar para que fossem determinadas as seqüências transcritas: o transcriptoma (bibliotecas de cDNA) de diferentes estádios do desenvolvimento da planta (Figura 5 B) Portanto, considerando a estrutura e o tamanho do genoma do trigo essa ação é mais lógica do que pensar num inexecutável projeto de seqüenciamento estrutural dessa espécie. De uma forma geral, a estratégia visa a gerar seqüências nucleotídicas dos genes transcritos em determinados estádios de desenvolvimento ou sob determinados estresses do ambiente. O esboço de uma associação internacional voltada para a geração dessas informações começou a ser definido em 1998, com a criação de uma ação Internacional Cooperativa para a produção de ESTs (*Expressed Sequence Tags*) de trigo. Atualmente, as ações

com a intenção de determinar a posição no mapa dos transcritos são coordenadas pelo *International Triticeae Mapping Initiative*. Os principais esforços para a criação de uma coleção de ESTs representativos do trigo estão sendo liderados pelos EUA (U. S. *Wheat Genome Project*), pelo Canadá (AAFC – *Agriculture and Agri-Food Canada*) e pela Inglaterra (BBSRC – *Biotechnology and Biological Sciences Research Council*). Veja uma foto dessa espécie vegetal observando a Figura 7.

Cevada (*Hordeum vulgare*) – os esforços para determinar a seqüência de nucleotídeos da cevada também sofrem impedimentos devido ao tamanho do seu genoma ~ 4,8 bilhões de nucleotídeos (4800 Mpb). O primeiro passo para contornar esse impedimento foi a produção de mapas físicos do genoma da cevada com alta densidade de marcadores; isso proporcionará a realização de comparações com o genoma do arroz. O próximo passo será a criação do transcriptoma da espécie. Essas decisões estão sendo implementadas em um esforço combinado entre cientistas da América do Norte (*North American Barley Genome Mapping*



Figura 9 – Detalhes de uma lavoura de milho (*Zea mays*) e de espigas maduras (direita inferior). Cortesia Prof. Silmar Peske.

Project, USA e North American Barley Genome Mapping Project, Canadá e da Europa (*Plant Genome Resource Centre, Alemanha e Scottish Crop Research Institute, Inglaterra*), para criar uma biblioteca de ESTs (*Expressed Sequence Tags*) o mais completa possível (Figura 5 B). Veja uma foto dessa espécie vegetal observando a Figura 8.

Milho (*Zea mays*) – a principal iniciativa para seqüenciamento do genoma do milho foi anunciada em setembro de 2002 pelo NFS (*National Science Foundation*) dos Estados Unidos. No entanto, há muito tempo os geneticistas da área do milho buscavam somar esforços com esse objetivo (BENNETZEN et al., 2001). Quatro fatores contribuíram para que essa iniciativa fosse retardada até 2002. Primeiro, os avanços na tecnologia de seqüenciamento reduziram consideravelmente o custo em comparação com o passado. Segundo, novas metodologias de *fingerprinting*, de alta resolução e produção, permitiram aumentar a eficiência na seleção de clones para o seqüenciamento, reduzindo ao mínimo a sobreposição de regiões seqüenciadas. Terceiro, foram desenvolvidas novas metodologias para preparar frações do genoma do milho ricas em genes (YUAN et al.,

2002). Quarto, análises comparativas do milho com o arroz (*Oryza sativa*) ou Arabidopsis sugerem que a seqüência do genoma dessas duas espécies não serão suficientes para entender detalhadamente o conteúdo de genes do milho e sua expressão (BENNETZEN et al., 2001; CHANDLER & BRENDDEL, 2002). Além disso, algumas características no genoma do milho sempre dificultaram a implementação de projetos de seqüenciamento da espécie. Destaca-se a existência de várias subespécies importantes (*Zea mays* spp. *Huebuetenangensis*, *Zea mays* spp. *mays* (mayze), *Zea mays* spp. *mexicana* (teosinto), e *Zea mays* spp. *Parviglumis*); o elevado conteúdo de DNA repetitivo (regiões duplicadas) presente no genoma do milho (HELENTJARIS, 1995) e o tamanho do seu genoma, cerca de 2500 Mpb.

Da mesma forma que está ocorrendo na geração de seqüências nucleotídicas da cevada e do trigo, o foco para o milho também será a geração de seqüências dos genes (o transcriptoma). As interações do sistema gênico poderão ser obtidas em genomas como o arroz, principalmente devido à ocorrência da sintenia entre os cereais. Veja uma foto dessa espécie vegetal observando a Figura 9.

Reflexos da Tecnologia na Produção de Cereais

Os grandes avanços na produção mundial de grãos, gerados a partir de meados do século passado, são decorrentes de uma contribuição decisiva do melhoramento clássico de plantas (BORLAUG, 1983). Ao contrário do que alguns entusiastas esperavam, as grandes expectativas decorrentes das inovações científicas dos últimos 30 anos não se refletiram em significativos incrementos na produção de grãos. Para que as tecnologias moleculares possam render os resultados esperados, algumas barreiras precisam ser superadas. A principal delas diz respeito à mudança de cultura nos programas de melhoramento de plantas, sendo necessário selecionar genes ao invés de selecionar plantas (KOORNNEEF & STAM, 2001). Superadas as barreiras culturais, a eficiência na implementação de ferramentas moleculares em programas de melhoramento de plantas poderá ser incrementada mediante a automatização dos processos de extração de DNA, a geração de um maior número de seqüências ligadas (marcadores) a caracteres de importância agrônômica e o barateamento dos equipamentos e insumos utilizados. O treinamento de novos melhoristas também deverá merecer atenção especial, pois, além da sólida formação em melhoramento clássico e em estatística, é recomendado que esses profissionais sejam treinados em genética molecular e técnicas moleculares aplicadas ao melhoramento de plantas. Principalmente por que é através desses novos profissionais que os programas de melhoramento clássicos poderão incorporar as novas ferramentas da biologia molecular.

O setor de melhoramento de plantas também necessita se articular para melhorar a capacidade de processamento das informações já disponíveis, principalmente aquelas decorrentes dos diferentes projetos de seqüenciamento de genomas. Atualmente, dois fatores contribu-

em para que as informações disponíveis não sejam aplicadas rotineiramente. A primeira delas é que há carência de bons sistemas de informática capazes de trocar informações com os bancos de dados com a agilidade requerida; a segunda é que poucos profissionais estão habilitados a realizarem buscas e a fazerem comparações de seqüências através de computadores.

Buscando alternativas para compor o sistema agrícola das várzeas do Sul do Brasil, sugerimos a implementação de ferramentas moleculares e de bons sistemas de informática para os programas de melhoramento locais. Essas ações devem estar voltadas para a: i) identificação de genes de tolerância a estresses abióticos em genomas “modelo” (arroz), com posterior caracterização em espécies de interesse (trigo, milho, cevada, sorgo, aveia e azevém); ii) caracterização molecular do germoplasma local; iii) identificação de “genes maiores”, responsáveis pela adaptação do arroz ao encharcamento; e, iv) criação de um banco de mutantes para o sistema de raízes.

Referências Bibliográficas

ADAMS, M.D.; et al., The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. **Science**, v. 287, n.5461, p. 2185-2195, 2000.

BENNETZEN, J.F.; SAN MIGUEL, P.; CHEN, M.; TIKHONOV, A. Grass genomes. **Proceedings of the National Academy of Science**. v. 95, pp. 1975-1978, 1998.

BENNETZEN, J.L.; CHANDLER, V.S.; SCHNABLE, P. National Science Foundation-Sponsored Workshop Report. Maize Genome Sequencing Project. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1572-1578, December, 2001.

BORLAUG, N.E. Contribution of Conventional Plant Breeding to Food Production. **Science**. v.219, pp.689-693, February 1983.

BORLAUG, N.E. Feeding a world of

10 billion people: the miracle ahead. **Plant Tiss. Cul. Biotech**. v.3, n.3, pp. 119-127, 1997.

CHANDLER, V.S.; BRENDDEL, V. The maize Genome Sequencing Project. **Plant Physiology**, v. 130, p.1594-1597, December, 2002.

DANTAS, B. F.; ARAGÃO, C. A.; ALVES, J. D. Cálculo e o desenvolvimento de aerênquima e atividade celulase em plântulas de milho submetidas a hipoxia. **Scientia Agrícola**. v. 58, n.2, pp. 251-257, 2001.

DEVOS, K.M.; BELAËS, J.; NAGAMURA, Y.; SASAKI, T. Arabidopsis-rice: will colinearity allow gene prediction across the eudicot-monocot divide?. **Genome research**. v. 9, pp. 825-829. 1999.

FEUILLET, C.; KELLER, B. Comparative Genomics in Grass Family: Molecular Characterization of Grass Genome Structure and Evolution. **Annals of Botany**. v. 89, pp. 3-10, 2002.

FRARY, A.; NESBITT, T.C.; GRANDILLO, S.; et al. *fw2.2*: A quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. **Science**, v.289, pp.85- 88, 2000.

GALE, M. D.; DEVOS, K. M. Comparative genetics in the grasses. **Proceedings of the National Academy of Science** v.95, pp. 1971-1974, 1998.

GOFF, S. A.; et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. Ssp. *japonica*). **Science**, Washington, v.296, n.5565, p.92-100, 2002.

HELENTJARIS, T. Atlas of duplicated sequences. **Maize Genet. Coop. Newsl.** V. 69, p.67-81, 1995.

KOORNNEEF, M.; STAM, P. Changing Paradigms in Plant Breeding. **Plant Physiology**, v. 125, pp. 156-159, January 2001.

LIU, B. H. Statistical Genomics – Linkage, Mapping and QTL Analysis. CRC – Boca Raton, New York, 611p, 1998.

MALUSZYNSKI, M. Crop germoplasm enhancement through mutation techniques. **In. Proceedings of**

the International Symposium on Rice Germplasm Evaluation and Enhancement. J.N. Rutger, J.F. Robinson, and R.H. Dilday, editors. Arkansas, USA. August 30 – September 2, 1998.

MANN, C. C. Reseeding the Green Revolution. **Science**. v. 277, n. 5329, pp. 1038-1043, 1997.

MANN, C.C. Crop Scientists Seek a New Revolution. **Science**. v. 283, n. 5400, pp. 310-314, 1999.

MCCOUCH, S. R. Genomics and Synteny. **Plant Physiol**, v. 125, pp. 152-155, January 2001.

PENNISI, E. Stealth genome rocks rice researchers. **Science**, Washington, v.288, n.5464, p.239-241, 2000.

PORTO, M.P.; PARFITT, J.M.B.; GASTAL, M.F.C.; et al. **Culturas alternativas ao arroz irrigado nas várzeas do Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1998. 42p.

STUBER, C.W.; POLACCO, M.; SENIOR, M.L. Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase crop yield potential. **Crop Science**, v.39, p.1571-1583, 1999.

THE ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE *. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, v.408, 14 December p.796-815, 2000.

YE, X.; AL-BABILI, S.; KLÖTI, A. et al. Engineering the provitamin A (β-carotene) biosynthetic pathway into (Carotenoid-free) rice endosperm. **Science**, v. 287, pp.303-305, 2000.

YU, J.; et al. A draft sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). **Science**, v. 296 April, p. 79-92, 2002.

YUAN, Y.; SAN-MIGUEL, P.J.; BENNETZEN, J.L. Methylation-Spanning Linker Libraries Link Gene-Rich Regions and Identify Epigenetic Boundaries in *Zea mays*. **Genome Research**, v. 12, p.1345-1349, 2002.



*A autoria deste trabalho deverá ser “The Arabidopsis Genome Initiative”. Uma lista completa dos colaboradores aparece no final do artigo original (*Nature*, 408: 796-815).