Melhoramento florestal e biotecnologia

Melhoramento florestal e biotecnologia

Eliel Alves Ferreira
Ricardo de Oliveira Manuel
Camila Moreira Batista Belini

© 2017 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Presidente
Rodrigo Galindo

Vice-Presidente Acadêmico de Graduação
Mário Ghio Júnior

Conselho Acadêmico
Alberto S. Santana
Ana Lucia Jankovic Barduchi
Camila Cardoso Rotella
Cristiane Lisandra Danna
Danielly Nunes Andrade Noé
Emanuel Santana
Grasiele Aparecida Lourenço
Lidiane Cristina Vivaldini Olo
Paulo Heraldo Costa do Valle
Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

Revisão Técnica
Paulo Sergio S. da Silva

Editorial
Adilson Braga Fontes
André Augusto de Andrade Ramos
Cristiane Lisandra Danna
Diogo Ribeiro Garcia
Emanuel Santana
Erick Silva Griep
Lidiane Cristina Vivaldini Olo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Ferreira, Eliel Alves
F383m Melhoramento florestal e biotecnologia / Eliel Alves Ferreira, Ricardo de Oliveira Manoel, Camila Moreira Batista Belini. – Londrina : Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2017.
184 p.

ISBN 978-85-8482-854-8

1. Plantas – Melhoramento genético. 2. Biotecnologia florestal. I. Manoel, Ricardo de Oliveira. II. Belini, Camila Moreira Batista.

CDD 581.35

2017
Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza
CEP: 86041-100 — Londrina — PR
e-mail: editora.educacional@kroton.com.br
Homepage: http://www.kroton.com.br/

Sumário

Unidade 1 | Princípios de genética e melhoramento florestal 7

Seção 1.1 - Introdução ao melhoramento 9
Seção 1.2 - Leis de Mendel 23
Seção 1.3 - Herança genética 37

Unidade 2 | Princípios de genética quantitativa 51

Seção 2.1 - Delineamentos genéticos 53
Seção 2.2 - Estatísticas do melhoramento 67
Seção 2.3 - Aplicação da genética quantitativa no melhoramento genético de plantas 79

Unidade 3 | Princípios da biotecnologia e recursos genéticos vegetais 95

Seção 3.1 - Biotecnologia 97
Seção 3.2 - Recursos genéticos 109
Seção 3.3 - Sistemas reprodutivos das plantas 121

Unidade 4 | Introdução aos métodos de melhoramento de plantas 135

Seção 4.1 - Métodos de melhoramento de autógamas 137
Seção 4.2 - Métodos de melhoramento de alógamas 151
Seção 4.3 - Métodos de melhoramento de espécies assexuadamente propagadas 165

Palavras do autor

Caro aluno, vamos começar o estudo sobre melhoramento florestal e biotecnologia. Você está preparado?

O melhoramento genético florestal e a biotecnologia são as mais valiosas estratégias para aumentar a produtividade de forma sustentável e ecologicamente equilibrada. Além da produtividade, o melhoramento tem por objetivo o aperfeiçoamento das propriedades químicas e físicas da madeira quanto à resistência a doenças e pragas, tolerância a estresses abióticos, dentre outros. Dessa forma, o melhoramento pode ser definido como a arte e a ciência que tem por objetivo a modificação genética das plantas para torná-las úteis aos homens, animais e ambiente.

Por meio do autoestudo, você conhecerá conceitos sobre melhoramento florestal e biotecnologia. Portanto, você estará se preparando para o mercado de trabalho. Você compreenderá os principais fundamentos relacionados aos princípios de genética, à genética quantitativa, aos tipos de reprodução e ao melhoramento florestal, além de conhecer os principais métodos de melhoramento de plantas. Com isso, você será capaz de utilizá-los para resolver problemas que enfrentamos em nossa vida profissional.

Na primeira unidade da disciplina, estudaremos os princípios de genética e melhoramento florestal; na segunda unidade, os princípios de genética quantitativa; na terceira unidade, os princípios da biotecnologia e recursos genéticos vegetais; e, na quarta unidade, será abordada a introdução aos métodos de melhoramento de plantas.

Ao final do seu estudo, você terá conhecido os princípios básicos do melhoramento florestal e da biotecnologia, necessários para sua formação.

Bons estudos e boa sorte na sua caminhada pelo fascinante universo do melhoramento florestal e da biotecnologia!

Princípios de genética e melhoramento florestal

Convite ao estudo

Prezado aluno, bem-vindo à disciplina "Melhoramento Florestal e Biotecnologia". É de sua competência, ao final dela, conhecer e compreender os principais fundamentos relacionados aos princípios de genética, à genética quantitativa, aos tipos de reprodução, ao melhoramento florestal e conhecer os principais métodos de melhoramento de plantas.

Iniciaremos agora a nossa primeira unidade de ensino, que tem por nome "Princípios de genética e melhoramento florestal". Nesta unidade, iremos estudar a história do melhoramento, rever as leis de Mendel e aprender sobre as heranças genéticas e seu papel no melhoramento. Todos esses temas são fundamentais para você começar a compreender a atuação de um profissional na área de melhoramento genético florestal.

Falando nisso, imagine que você é o trainee de uma empresa florestal e faz parte de um grupo de pesquisadores e melhoristas. Essa empresa atua no melhoramento e tem interesse de aprimorar uma determinada espécie florestal, cujo projeto de melhoramento está prestes a começar. Essa é uma planta perene, arbórea, típica de clima tropical e nativa de determinada região, cujo cultivo para produção de madeira ocupa grandes áreas. Você acompanhará os melhoristas da empresa nesse projeto e, como todo aprendiz, é muito importante relatar as suas atividades para os seus superiores, que lhe solicitaram que realizasse um relatório sobre a aplicação dos conceitos dos princípios de genética e melhoramento florestal com base no projeto que irá começar. O relatório será realizado em três etapas: 1ª) O que é o melhoramento, como ele funciona e quais seus possíveis impactos na região de ocorrência dessa espécie e na própria cultura; 2ª) Quais são as leis de Mendel implícitas no melhoramento da espécie estudada e como elas funcionam; e 3ª) Quais as implicações que o pleiotropismo terá no programa de melhoramento dessa espécie.

Você tem ideia do que é o melhoramento de plantas? Já ouviu falar das leis de Mendel e de como a herança genética é fundamental nas nossas vidas? Esta unidade tem grande importância para esta disciplina, já que resgataremos esses conceitos e tentaremos lançar subsídios para que você possa entender casos práticos e consiga cumprir a sua tarefa na empresa em que atua no momento. Vamos, então, aos estudos? Boa leitura!

Seção 1.1

Introdução ao melhoramento

Diálogo aberto

Olá, aluno! Vamos iniciar nossos estudos de introdução ao melhoramento! Para caminharmos na direção de conhecer e ser capaz de identificar os principais fundamentos relacionados à genética e ao melhoramento florestal, abordaremos os principais aspectos sobre a história do melhoramento, os conceitos genéticos, os objetivos e impactos do melhoramento.

Considerando suas funções como trainee de uma empresa de melhoramento florestal, você passará agora a acompanhar os melhoristas da empresa em um projeto com uma espécie perene e arbórea, com efeitos pleiotrópicos mínimos, cujos cultivos ocupam grandes áreas. Na primeira etapa desse projeto, foi verificado que essa planta, ao ser melhorada, poderá reduzir espaço em área, gerar mais lenha e, consequentemente, aumentar os lucros da empresa. A região na qual se encontra a empresa é de topografia plana, de clima tropical com chuvas regulares durante o ano, e o solo é classificado como latossolo vermelho-amarelo.

Você se lembra da sua tarefa como trainee da empresa neste projeto? Pois bem, você deverá realizar um relatório sobre a aplicação dos conceitos dos princípios de genética e melhoramento florestal, cuja primeira etapa será realizada agora, nesta seção. Portanto, no relatório você deve responder aos seguintes questionamentos: (i) o que é o melhoramento? (ii) como ele funciona? (iii) quais os possíveis impactos que o melhoramento terá na região de ocorrência dessa espécie e na própria cultura em questão? Faça o relatório associando essas questões, pois é de grande valia associar a importância dos impactos que o melhoramento produz com a planta que está sendo estudada.

Essas questões serão discutidas e respondidas mais adiante. Mas, para isso, é preciso que você tenha adquirido alguns conhecimentos básicos sobre melhoramento. Verifique o que significa melhorar uma planta e que conceitos estão associados à genética para realizar o melhoramento. Para a construção desse início de relatório, tenha em mente os objetivos de melhoramento de plantas, isto é, o que é melhorar uma espécie florestal? Finalmente, para conclusão desta primeira parte, é importante

associar os impactos que o melhoramento de plantas produz na sociedade e, sempre que possível, associe a planta perene em estudo.

Não pode faltar

História do melhoramento

Para entendermos a genética e o melhoramento, precisamos nos voltar à história. Os primeiros habitantes da terra eram nômades e se alimentavam basicamente de caças, frutas e sementes de plantas nativas, portanto eram caçadores-coletores. Eles observaram que as sementes dos alimentos poderiam ser, de alguma forma, reproduzidas e que os animais poderiam ser cercados. Assim começa a agricultura e a pecuária. Acredita-se que o melhoramento genético teve início juntamente com o surgimento da agricultura, pois existem evidências de que, há mais de 10 mil anos, no período pré-histórico, o homem já se preocupava com a seleção de plantas e animais para sua sobrevivência. O melhoramento é uma prática antiga, no entanto é relativamente recente como ciência. Ao longo do tempo, muitas hipóteses foram formuladas para tentar explicar a hereditariedade, porém sem muito sucesso.

Em 1822, na República Checa, nasceu Johannes Gregor Mendel, mais conhecido como Mendel. Aos 35 anos, ele iniciou, em uma pequena área do convento onde vivia, os seus trabalhos de hibridação com ervilha. Apesar dos trabalhos de Mendel terem sido extremamente importantes para o desenvolvimento da genética e do melhoramento, na época não receberam o devido mérito. Somente em 1900, os trabalhos de Mendel foram reconhecidos, 16 anos após a sua morte. Tal reconhecimento ocorreu devido aos trabalhos de De Vries, Correns e Tschermak, que comprovaram a teoria de Mendel. Assim, 1900 é considerado o ano do nascimento da genética. Na Seção 1.2, aprofundar-nos-emos nas leis de Mendel.

Nos seus primeiros anos, a genética se preocupou em conhecer o controle genético das características. Entretanto, a partir dos anos 1950, foram intensificadas as pesquisas sobre a natureza química do gene, seu funcionamento e regulação. Tais pesquisas contribuíram para o desenvolvimento de uma nova tecnologia denominada engenharia genética.

Após a redescoberta das leis de Mendel, e com o avanço de outros ramos científicos, o melhoramento de plantas passou a possibilitar a criação de novos tipos de plantas, pela modificação dirigida dos caracteres hereditários. Outro fato relevante é a criação de organismos geneticamente modificados (OGMs) que podem conferir resistência a pragas, doenças e herbicidas, podendo também melhorar a qualidade dos alimentos. Hoje, a elevada produtividade de milho e soja foi alcançada. Verdade que tal produtividade somente foi possível com a ajuda da melhoria do ambiente para as plantas, por intermédio de adubação, irrigação, controle de pragas, doenças e plantas daninhas e outras práticas agrícolas. Igualmente verdade que somente essas

práticas, sem o auxílio dos progressos no melhoramento de plantas, não permitiriam esses ganhos. Corroborando tal afirmativa, o ganho de produtividade em madeira foi de 28 m^3/ha/ano, em 1960, para mais de 45 m^3/ha/ano, atualmente.

O melhoramento vegetal de espécies florestais é uma ciência relativamente nova, tendo experimentado maiores incrementos a partir de 1950. Provavelmente, as primeiras espécies a serem melhoradas em larga escala foram *Pinus elliottii* e *Pinus taeda,* nos Estados Unidos, e *Acacia mearnsii* (acácia – negra), na África do Sul.

No Brasil, o melhoramento florestal cresceu a partir de 1967, com a implantação da lei de incentivos fiscais ao reflorestamento. O melhoramento contribuiu muito para a silvicultura intensiva no país. Essa ciência apresenta peculiaridades e aspectos próprios. Utiliza também conceitos desenvolvidos e aplicados ao melhoramento animal e ao de culturas agrícolas anuais. Isso decorre do aspecto perene e da diversidade de sistemas reprodutivos associados às espécies florestais. Atualmente, o Brasil está entre os 10 maiores países em florestas plantadas do mundo.

Uma das principais espécies florestais, o eucalipto, tem como origem a Austrália. As principais espécies cultivadas no Brasil são: *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus saligna* e o *Eucalyptus urophylla*, além dos híbridos, como o *Eucalyptus urograndis* (*E. grandis* X *E. urophylla*). Acredita-se que os primeiros plantios ocorreram na Europa, Ásia e na África no início do século XVIII. Posteriormente, foram introduzidos na Espanha, Índia, Brasil, Argentina e Portugal.

As primeiras mudas de eucalipto chegaram ao Brasil em 1868, no estado do Rio Grande do Sul. Em 1903, Edmundo Navarro de Andrade deu início às pesquisas com eucalipto na Companhia Paulista de Estrada de Ferro. Sua implantação teve como objetivo atender à demanda de madeira para a construção de ferrovias. Esses trabalhos foram considerados avançados para a época, tanto que foram encontradas espécies promissoras. No entanto, as plantações eram heterogêneas, resultando em árvores desuniformes e com baixa produtividade. Assim, em 1941, Edmundo convidou Carlos Arnaldo Krug, do Instituto Agronômico de Campinas, para iniciar um programa de melhoramento genético. Em 1950, o eucalipto passa a ser plantado para fornecer matéria-prima com o intuito de abastecer as fábricas de papel e celulose. Já em 1967, com a demanda crescente de madeira no país, nasce o programa de incentivos fiscais. Nas décadas de 1970 e 1980, o desenvolvimento de clonagem (propagação vegetativa) ganha escala comercial. Dessa forma, em 1990, o Brasil passa a ser referência mundial na eucaliptocultura, o que ocorre até o momento.

Por trás dos elevados ganhos de produtividade estão muitos pesquisadores, institutos de pesquisas e universidades que trabalham com melhoramento. Desses, vale ressaltar o instituto agronômico de Campinas (IAC), sendo o primeiro instituto de pesquisa no Brasil, e a empresa brasileira de pesquisa agropecuária (EMBRAPA).

É importante ressaltar que o IAC foi fundado em 1887 pelo então Imperador D. Pedro II, tendo recebido a denominação de Estação Agronômica de Campinas. Em 1892, passou para a administração do Governo do Estado de São Paulo. Já a Embrapa foi criada no início dos anos 1970, visando mudar a realidade brasileira no campo. A Embrapa, então, implantou unidades como o centro nacional de recursos genéticos (Cenargen), posteriormente Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia ou Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, com a finalidade de introduzir, conservar e disponibilizar germoplasma, matéria-prima para os programas de melhoramento a serem executados em todo o país.

Conceitos genéticos: para melhor compreendermos o melhoramento genético, primeiramente, precisa-se compreender o que é genética. Genética é o estudo de dois fenômenos distintos: variação e hereditariedade. Variação é toda variabilidade contida em uma determinada população. A variabilidade pode ser ocasionada pelo ambiente, como adubação e tratos culturais, e também pode ser de origem genética, quando há diferenças na constituição genética, ou seja, os genes são diferentes. Já a hereditariedade é a tendência de iguais gerarem semelhantes, por exemplo, os filhos serem semelhantes aos pais.

Apesar de serem antagônicas, a hereditariedade sendo relacionada com semelhanças e a variação relacionada com as diferenças, elas são complementares. Pois, para realizar o melhoramento genético, é preciso que haja variabilidade e que essa seja herdável. Deve-se aproveitar de forma vantajosa a variabilidade genética.

A variabilidade genética está contida nos cromossomos. Estes são filamentos espiralados de cromatina, existentes no núcleo de todas as células. A cromatina é constituída de nucleoproteínas, ou seja, por um complexo de DNA e de proteínas. Cada um dos cromossomos de eucariotas contém apenas uma única molécula linear de DNA, que na intérfase é replicada. Cada espécie apresenta um número característico de cromossomos. Já o cromossomo de procariotas é único, na maioria dos casos circular e constitui-se apenas de DNA.

É importante ressaltar que a variabilidade genética ocorre devido à variabilidade dos genes, que são seguimentos de DNA (ácido desoxirribonucleico) situados numa posição específica de um determinado cromossomo. O DNA é o material genético primário da maioria dos organismos, sendo ele constituído por duas fitas complementares. Apesar de a maioria dos organismos terem como material genético o DNA, há alguns vírus que têm como material genético o RNA (ácido ribonucleico), como o vírus do mosaico do fumo (TMV). Tanto DNA quanto RNA são ácidos nucleicos.

O DNA é formado por monômeros denominados nucleotídeos, sendo que em cada um deles contém um ácido fosfórico, um açúcar de cinco carbonos (desoxirribose) e uma das quatro bases nitrogenadas. As bases nitrogenadas são

denominadas adenina (A), guanina (G), timina (T) e citosina (C). É importante ressaltar que a adenina e a guanina pertencem ao grupo das purinas, enquanto a timina e a citosina são do grupo das pirimidinas. Com a descoberta da estrutura do DNA, houve uma revolução na biologia, cujo início deu-se com o estabelecimento da teoria celular e a descoberta das leis da herança dos "fatores hereditários" (genes) por Mendel e seu relacionamento com os cromossomos.

Em 1953, Watson e Crick formularam um modelo da molécula de DNA constituído por duas cadeias de açúcar-fosfato enroladas para a direita, formando uma hélice dupla no exterior, unidas por duas bases nitrogenadas, no centro. Essas ligações são específicas e ocorrem entre a adenina e a timina e entre a guanina e a citosina. A hélice dupla é similar a uma escada caracol, sendo que as bases são os degraus. O diâmetro da hélice dupla é de 20 Angström (um Angström equivale a 0,1 mμ) e a distância entre dois pares de nucleotídeos é de 3,4 Angström. Assim, a volta completa (360 °) ocorre a cada 10 pares de nucleotídeos, totalizando 34 Angström por volta completada. A ligação do açúcar-fosfato ocorre de forma que a posição 3' da molécula de açúcar liga-se ao grupamento fosfato, que, por sua vez, liga-se à posição 5' da molécula de açúcar subsequente, sendo sintetizadas na direção de 5' para 3'. Assim, as duas cadeias têm orientações antiparalelas.

O RNA é semelhante ao DNA. Entretanto, diferem nos seguintes pontos: no RNA, o açúcar é a ribose, no lugar da timina tem-se a uracila (U) e apresenta uma única cadeia (fita simples). Existem três tipos principais de RNA, tendo cada um deles uma função específica. Os principais tipos de RNA são: RNA mensageiro (mRNA), RNA ribossômico (rRNA) e RNA transportador (tRNA). Além desses, há outros RNAs denominados pequenos e que participam, principalmente, em função enzimática no núcleo e citoplasma. É importante salientar que todos os RNAs são transcritos a partir de uma das cadeias do DNA.

Até o momento, vimos que o material genético é composto pelo DNA e RNA. Watson e Crick propuseram um diagrama que ficou conhecido como dogma central da Biologia. Esse dogma corresponde ao ponto fundamental da Biologia, pois uma molécula de DNA dá origem a duas moléculas de DNA pelo fenômeno denominado replicação. Outro ponto do dogma é que uma molécula de DNA é transcrita em uma molécula de RNA, que, por sua vez, é traduzida em proteína.

As moléculas de DNA são copiadas da molécula preexistente. As pontes de hidrogênio (que unem as duas cadeias do DNA) se rompem, permitindo que as cadeias complementares se separem. Posteriormente, ocorre o pareamento específico entre as bases nitrogenadas, permitindo que cada cadeia simples sirva de molde (fita molde) para a síntese da cadeia complementar (fita complementar). A nova molécula apresenta uma cadeia velha e uma cadeia nova, sendo a replicação, por esse motivo, semiconservativa. Assim, todas as células terão a mesma constituição genética.

A enzima responsável pela síntese de DNA é a DNA polimerase. Essa enzima adiciona novos nucleotídeos a uma pequena cadeia de nucleotídeos preexistente, denominada de primer ou iniciador. O primer é um segmento com cerca de 10 bases em que são adicionados nucleotídeos pela DNA polimerase em uma sequência complementar à cadeia molde. Os nucleotídeos são acrescentados à extremidade 3' da cadeia em crescimento. Dessa forma, a síntese de DNA caminha na direção 5' → 3'.

A transcrição é a passagem da informação genética do DNA para uma molécula de mRNA, sob ação da enzima RNA polimerase, que ocorre no núcleo. A informação genética transcrita é levada até o citoplasma, especificamente para os ribossomos, em que ocorre a síntese da cadeia polipeptídica (algumas com atividade enzimática).

A tradução é o processo que ocorre nos ribossomos, em que há a produção da cadeia polipeptídica. A sequência de nucleotídeos do mRNA é lida e traduzida em termos de uma sequência de aminoácidos, dentro de um complexo que envolve enzimas, tRNA e aminoácidos. Assim, formam-se as proteínas que poderão ser expressas fenotipicamente. Portanto, o fenótipo é controlado pelo DNA.

Reflita

Vimos que o dogma central da Biologia é crucial para o entendimento de como o fluxo da informação genética ocorre. Qual a importância desse dogma para a manifestação fenotípica?

Até o momento, vimos que o fenótipo é controlado pelo DNA. Entretanto, é fortemente influenciado pelo ambiente, pois um genótipo pode ser adaptado a um local e não ser produtivo em outra localidade. Suponha que tenhamos duas mudas de eucalipto oriundas da mesma planta por meio de clonagem, ou seja, com genótipos idênticos. Planta-se uma em solo fértil e a outra, na areia. As duas plantas serão muito diferentes em várias características fenotípicas.

Do exposto, pode-se inferir que dois genótipos diferentes em um mesmo ambiente terão fenótipos diferentes. O mesmo ocorre se dois genótipos idênticos estiverem em ambientes diferentes. Assim, o que ocorre na expressão de qualquer característica é uma ação conjunta do genótipo e do ambiente. Portanto, o genótipo (G) mais o ambiente (A) é igual ao fenótipo (F), isto é: F = G + A.

Em uma mesma espécie, existem várias cultivares. Essas variações ocorreram devido à recombinação gênica, que ocorre com a troca aleatória de segmento cromossômico durante a meiose. Essa troca de segmento cromossômico é denominada permuta. Outra forma de aumentar a variabilidade é a mutação, que é qualquer modificação hereditária no conjunto gênico de um organismo.

Além da mutação e da recombinação gênica, uma forma de aumentar a

variabilidade muito utilizada no melhoramento florestal é a hibridação interespecífica, ou seja, entre espécies diferentes, ou hibridação dentro da mesma espécie. O objetivo do melhoramento por hibridação é reunir em um novo genótipo alelos favoráveis presentes em dois ou mais genótipos.

O processo de hibridação e de recombinação gênica gera uma grande variabilidade genética, sendo que na variabilidade há alelos favoráveis e não favoráveis. A variabilidade genética também pode ser chamada de pool gênico. Ela é muito importante para o melhoramento, pois permite selecionar genótipos com elevado potencial produtivos. Entretanto, deve-se ter o cuidado para não perder toda a variabilidade genética, podendo reduzir a habilidade das populações de se adaptarem em ambientais adversos, como surgimento de uma nova praga ou doença.

Assimile

Caro aluno, destacamos aqui três conceitos muito importantes para você assimilar: manifestação fenotípica, variabilidade genética e hereditariedade. Em suma, a manifestação fenotípica é resultado da expressão gênica, a variabilidade genética mede a tendência dos diferentes alelos de um mesmo gene que variaram entre si em uma dada população e a hereditariedade é o fenômeno pelo qual os descendentes se assemelham aos seus ascendentes.

Objetivos do melhoramento: o melhoramento de plantas é a mais valiosa estratégia para aumentar a produtividade de forma sustentável e ecologicamente equilibrada. O melhoramento pode ser definido como a arte e a ciência que tem por objetivo a modificação genética das plantas para torná-las úteis aos homens, aos animais e ao ambiente.

A prática do melhoramento genético não é para quem tem pressa, mas para quem é responsável, pois, para lançar uma cultivar no mercado, demora anos. Essa demora é fruto da prudência e do rigor metodológico, bases éticas para a recusa à liberação de um novo material genético, caso não traga, comprovadamente, benefícios aos produtores e consumidores.

Para se obter ganhos genéticos significativos em programas de melhoramento florestal, a seleção de espécies e procedências dentro das melhores espécies são os dois mais importantes passos a serem realizados.

Entre as técnicas empregadas na agricultura, poucas detêm tanta unanimidade com respeito à sua necessidade e reflexos benéficos quanto ao uso de cultivares melhoradas. Tal fato ocorre devido à tecnologia estar embutida na semente ou na parte vegetal, quando propagada de forma vegetativa. Os benefícios podem ser o aumento da produtividade, genótipos tolerantes a estresse abiótico, características

adequadas às necessidades do produtor/indústria, genótipos precoces (menor ciclo produtivo) e genótipos resistentes ou tolerantes a doenças e pragas.

Em suma, o objetivo do melhoramento pode ser definido como o caráter econômico sobre o qual se deseja o ganho genético, podendo, então, ser uma característica única ou uma combinação de características. A definição do objetivo depende da correta avaliação do produto (comercial ou não) de interesse e de informações econômicas dos componentes desse produto. É importante relatar que os critérios de seleção podem variar entre os diferentes programas de melhoramento com a mesma finalidade. Assim, os objetivos mais comuns são referentes ao incremento do crescimento, à produtividade (madeira, fibras, energia), às alterações das propriedades químicas da madeira (teor e tipo de lignina e celulose), às modificações das propriedades físicas da madeira (ângulo de fibras, espessura de parede), à resistência a doenças e pragas, à tolerância a estresses abióticos (geadas, seca, salinidade), à melhoria da capacidade fotossintética, aos caracteres fisiológicos, ao uso em biorremediação, à produção de compostos farmacêuticos, às alterações na arquitetura da árvore (ramos, nós, interceptação de luz), dentre outros.

É importante que esses objetivos estejam associados à interação genótipo x ambiente, que se refere à estabilidade e adaptabilidade dos materiais genéticos. Esses conceitos estão associados à pequena variação no comportamento dos genótipos quando os ambientes são desfavoráveis e à capacidade de resposta dos materiais genéticos à melhoria do ambiente, respectivamente.

Exemplificando

Um bom exemplo é o melhoramento de eucalipto buscando a redução do ciclo, ou seja, a precocidade. Assim, diminui-se o intervalo entre os cortes. Outro exemplo é o melhoramento visando à resistência a pragas e doenças. Dessa forma, são minimizados os gastos com agrotóxico, além de se deixar de poluir o meio ambiente. Um exemplo, pensando na indústria, é a redução do teor de lignina, que pode diminuir a necessidade de produtos químicos e a quantidade de energia necessária para o processamento de celulose.

Impactos do melhoramento: o melhoramento genético vem adicionando novas técnicas e conceitos da agricultura sustentável aos tradicionais métodos de seleção praticados nos últimos 100 anos. Assim, estima-se que metade de incrementos da produtividade das principais espécies cultivadas seja atribuída ao melhoramento genético.

A produtividade de madeira de eucalipto, em 1960, era de 20 m^3/ha/ano. Após anos de melhoramento, encontra-se superior a 45 m^3/ha/ano. Outro exemplo, ainda

com eucalipto, é a produtividade de celulose, que passou de 5,8 t/ha/ano para mais de 11 t/ha/ano. Tais ganhos em produtividade, em um período relativamente curto, foi possível devido à melhoria do manejo e das técnicas de cultivo, mas , principalmente, do melhoramento genético. Essa eficiência foi possível em virtude dos indivíduos superiores que foram selecionados e perpetuados por meio de propagação assexuada, que são clones. Esses são exemplos de sucesso obtido por pesquisadores brasileiros.

Outro exemplo de melhoramento de espécie florestal é a seringueira (*Hevea brasiliensis*). A domesticação da seringueira iniciou-se há cerca de 150 anos, sendo ela considerada uma espécie selvagem da Amazônia. O melhoramento genético da seringueira contribuiu para o seu desenvolvimento, elevando a produtividade de 400 kg para 2.500 kg/ha/ano de coágulo, podendo encontrar seringais que chegam a 3.900 kg/ha/anos. Esses resultados foram possíveis devido aos trabalhos dos melhoristas que formularam novas estratégias com o intuito de incrementar cada vez mais a produtividade do seringal, integrando um conjunto de métodos de melhoramento.

Pesquise mais

O mercado atual exige melhoristas ecléticos e dinâmicos e com afinidade para o trabalho em equipe. Os melhoristas modernos necessitam de sólida formação e vasto conhecimento científico. Além disso, com as novas tecnologias nas áreas de genética molecular, cultura de tecidos e bioquímica, dentre outras, esses profissionais precisam estar aptos para avaliar os novos recursos e adotar aqueles que contribuirão para o aumento do ganho genético a um custo aceitável. Do exposto, convidamos você a assistir a essa entrevista muito enriquecedora com o pesquisador da Embrapa Hortaliças (Brasília, DF) Leonardo Boiteux, que falará de muitas coisas que você estudou nesta seção.

TVNBR. **Melhoramento genético de plantas e animais é tema do Conexão Ciência**. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=l-pYY89xUl0>. Acesso em: 23 ago. 2013.

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos básicos desta disciplina, vamos relembrar a situação apresentada no início desta seção?

Nela, você assumiu o papel de um trainee de uma empresa de melhoramento florestal que está acompanhando melhoristas da empresa em um projeto com uma espécie perene e arbórea. Na primeira etapa desse projeto, foi verificado que a planta, ao ser melhorada, poderá reduzir espaço em área, gerar mais lenha e,

consequentemente, aumentar os lucros da empresa. Esse, então, é o momento da confecção da primeira parte do seu relatório sobre a aplicação dos conceitos dos princípios de genética e melhoramento florestal, no qual você deverá responder aos seguintes questionamentos: (i) o que é o melhoramento? (ii) como ele funciona? (iii) quais os possíveis impactos que o melhoramento terá na região de ocorrência dessa espécie e na própria cultura em questão?

Para a construção do relatório, primeiramente, você deve ressaltar no documento que o melhoramento genético é a mais valiosa estratégia para aumentar a produtividade de forma sustentável e ecologicamente equilibrada, sendo definido como a arte e a ciência que tem por objetivo a modificação genética das plantas. A principal função do melhoramento é aproveitar de forma vantajosa a variabilidade genética.

Com relação à espécie que você está acompanhando no projeto, relate os possíveis impactos que o melhoramento terá na sua região de ocorrência. Tais impactos podem ser um melhor desenvolvimento da cultura, melhorando características que irão beneficiar tanto o agricultor (produtividade, resistência a doenças e pragas, entre outras) quanto a indústria de transformação e o consumidor final (qualidade do produto). Assim, irá beneficiar toda a região, gerando riquezas, empregos e mais impostos.

Como os programas de melhoramento de plantas, independentemente da cultura que se está trabalhando, possuem alguns objetivos em comum, em relação à própria cultura, os possíveis impactos são aumento de produtividade, incorporação de novas áreas, aumento da qualidade, resistência a doenças e pragas, ciclos mais precoces, aumento na produtividade da madeira, aumento na produtividade da celulose, entre outros.

Salienta-se, também, em seu relatório que o melhoramento de plantas é, em geral, uma atividade que pode levar muitos anos, ainda mais quando se trata de arbóreas. A adaptação das culturas a novos ambientes de produção é um dos principais objetivos do melhoramento de plantas. Um bom exemplo disso foi o grande sucesso de produtividade da madeira para *Eucalyptus* no Brasil.

Resumidamente, para essa primeira fase do seu relatório, a ideia é que você tenha em mente o que é o melhoramento, como ele pode ser utilizado e quais impactos ele (bem utilizado) poderá ter na sua empresa e região.

Avançando na prática

Esquema introdutório sobre melhoramento

Descrição da situação-problema

A empresa em que você trabalha pediu para que você apresentasse para várias

escolas da região, que virão visitar as instalações, um esquema que permita introduzir todo esse contexto inicial do melhoramento de forma didática.

A ideia é que esse esquema seja a síntese de tudo o que você leu até aqui. Nele, teremos uma caixa para os quatro tópicos do melhoramento: (i) qual a história do melhoramento genético de plantas? (ii) quais são os conceitos genéticos mais importantes? (iii) como ocorre a manifestação fenotípica? e (iv) quais são as consequências da variabilidade genética? Responda a esses questionamentos e use cores e letras chamativas para destacar os tópicos. A seguir, veremos um exemplo da resolução desse esquema, porém ouse e seja criativo na sua tarefa durante a sua apresentação.

Resolução da situação-problema

Para resolver esse problema, você pode apontar, com relação à história do melhoramento, o papel das sociedades primitivas, que eram nômades e, posteriormente, passaram a realizar a agricultura. Como vimos, acredita-se que o melhoramento de plantas iniciou-se juntamente com a agricultura, fazendo seleção das plantas melhores a serem plantadas. Tais pontos podem ser utilizados como elementos importantes da história para a sua apresentação.

Sobre os conceitos genéticos associados ao melhoramento, é difícil selecionar um, porém existem alguns de destaque, por exemplo, DNA, RNA, seleção, recombinação genética, mutações, híbridos, entre outros. Esses conceitos estão diretamente relacionados com a manifestação fenotípica e com a variabilidade genética, que são as bases para a seleção de plantas.

Para ocorrer a manifestação fenotípica, ressalte que, primeiramente, o DNA é transcrito em RNA mensageiro (mRNA) no núcleo da célula. Posteriormente, o mRNA é traduzido em proteínas no citoplasma e são estas proteínas que manifestarão o fenótipo. Dessa forma, a produtividade, a qualidade, a resistência a pragas e doenças, entre outras, são o resultado da transcrição e tradução do DNA.

Com a variabilidade genética, há diferentes alelos de um mesmo gene que variaram entre si em uma dada população. Isso possibilita diferentes fenótipos para uma mesma característica. Por exemplo, uma planta pode ser resistente a uma determinada doença e uma outra planta ser suscetível. Assim, a variabilidade genética possibilita a seleção de genótipos superiores.

Faça valer a pena

1. Recombinação gênica refere-se à mistura de genes provenientes de indivíduos diferentes que ocorre na reprodução sexuada. Nesse tipo de reprodução, os genes provenientes de cada um dos pais recombinam-se antes de serem transmitidos à descendência. Embora a mutação seja a única maneira de fazer surgir uma nova forma gênica (um novo alelo) na população, é por meio da recombinação gênica que os genes se organizam em novos arranjos nos indivíduos sobre os quais a seleção natural atua.

A recombinação gênica ocorre durante a meiose por meio da permuta, ou seja, da troca de segmento cromossômico. Qual a sua importância para o melhoramento?

a) Gerar variabilidade genética.

b) Gerar indivíduos iguais.

c) Gerar indivíduos semelhantes e mutações gênicas.

d) Reprodução diferencial e mutações gênicas.

e) Gerar a similaridade genética.

2. O dogma central da Biologia corresponde ao ponto fundamental da Biologia, pois uma molécula de DNA dá origem a duas moléculas de DNA e uma molécula de DNA é transcrita em uma molécula de RNA que, por sua vez, é traduzida em proteína.

Quais os nomes das enzimas principais responsáveis pelo primeiro e segundo processos?

a) Histona 1 e histona 2, respectivamente.

b) DNA polimerase e RNA polimerase, respectivamente.

c) Histona 1 e RNA polimerase, respectivamente.

d) DNA polimerase e histona 2, respectivamente.

e) RNA polimerase e DNA polimerase, respectivamente.

3. O melhoramento genético florestal pode ser considerado uma ciência relativamente nova e muitos são os seus objetivos. O melhoramento de plantas, e especificamente o melhoramento de espécies florestais, tem contribuído para que muitas espécies arbóreas se tornem mais produtíveis, beneficiando o homem e o meio ambiente.

Quais são as principais características que vêm sendo melhoradas nas espécies florestais?

a) Produção de biomassa.

b) Tolerância a herbicidas.

c) Resistência a pragas.

d) Alteração na composição de lignina.

e) Todas as anteriores.

Seção 1.2

Leis de Mendel

Diálogo aberto

Olá, aluno! Vamos dar continuidade aos nossos estudos para melhor entendermos o fascinante mundo do melhoramento florestal e da biotecnologia? Para continuarmos a nossa caminhada na direção de conhecer e ser capaz de identificar os principais fundamentos relacionados à genética e ao melhoramento florestal, nesta seção estudaremos as leis de Mendel.

Você se recorda do nosso contexto de aprendizagem da unidade? Lembre-se de suas funções como trainee da empresa de melhoramento florestal, em que sua tarefa é a de redigir um relatório a partir do acompanhamento do projeto de melhoramento de uma espécie arbórea perene com o objetivo de aumentar a quantidade de lenha. Na seção anterior, você realizou a primeira etapa desse documento, no qual foi explorado o que é melhoramento, como ele funciona e quais os possíveis impactos dessa técnica na região de ocorrência da espécie estudada e na própria cultura em questão. Nesta seção, teremos subsídios para fazer a segunda etapa do relatório, relacionada às leis de Mendel, implícitas no melhoramento da espécie estudada. Porém, houve progresso na pesquisa durante o estudo com a espécie arbórea. Os pesquisadores da empresa detectaram que (i) algumas plantas mutantes foram obtidas no laboratório de cultura de células e que (ii) algumas progênies da espécie estudada são resistentes à ferrugem (uma doença causada pelo fungo *Puccinia psidii Winter*) e foram provenientes de um cruzamento entre indivíduos resistentes e susceptíveis a doenças.

Portanto, agora, você deve responder aos seguintes questionamentos no seu relatório: (i) o que é mutação? Quais formas de mutação podem existir? Quais seriam as implicações da mutação na espécie estudada? (ii) quais são as leis de dominância? Como é possível explicar, de forma breve, o motivo da progênie ser resistente à ferrugem, uma vez que um de seus descendentes era suscetível à doença? (iii) quais são as leis de Mendel e em que elas afetam no melhoramento dessa espécie?

Faça essa etapa do relatório associando as questões, pois é de grande valia associar a mutação às leis de dominância e às leis de Mendel. Essas questões serão discutidas e respondidas após o estudo destes conteúdos, sendo, portanto, o nosso objetivo

de aprendizagem. Lembre-se! Para dar prosseguimento a esse relatório, continue tendo em mente os objetivos do melhoramento de plantas estudado anteriormente e, para conclusão dessa segunda parte do relatório, associe sempre os conhecimentos adquiridos à planta perene arbórea que está sendo estudada. Voltemos aos estudos? Boa leitura!

Não pode faltar

Mutações são as mudanças que ocorrem no DNA de qualquer organismo, e essas mudanças serão transmitidas para as próximas gerações. Outra definição encontrada explica que todo processo em um gene resulta em mudança estrutural. É importante ressaltar que as mutações se distinguem das aberrações cromossômicas numéricas e estruturais, por serem alterações pontuais, podendo ser: eliminação, adição ou substituição de um ou poucos nucleotídeos da fita de DNA. Já as aberrações são alterações que ocorrem em nível de um ou mais genes, podendo envolver o pedaço de um cromossomo, um cromossomo inteiro ou até mesmo um conjunto inteiro de cromossomos.

Se não houvesse a mutação, todos os genes ocorreriam apenas de um jeito, pois não existiriam alelos. Assim, os organismos não seriam capazes de evoluir e se adaptar às mudanças ambientais.

Há duas formas de ocorrência de mutações: uma ocorre espontaneamente e a outra por indução. Sendo que, nesse caso, os agentes mutagênicos utilizados podem ser de natureza química ou física. Como agentes físicos, têm-se a temperatura e as radiações. Em relação às radiações, destacam-se as ionizantes e as excitantes. As radiações ionizantes são proporcionadas pelos raios X, alfa, beta e gama, que atuam alterando a valência química através da ejeção (expulsão) de elétrons. Já os raios alfa, beta e gama são liberados pelos isótopos radioativos P32, S35 e cobalto-90, respectivamente. Vale salientar que a taxa de mutação é geralmente proporcional à dosagem de irradiação, mas essa regra aplica-se à quantidade de danos e não à qualidade, pois uma única mutação poderá ser de extrema importância para o genótipo. As radiações excitantes são proporcionadas pelos raios que atuam aumentando o nível de energia do átomo, tornando-os menos estáveis. Um exemplo é o ultravioleta, que provoca dímeros de pirimidinas, principalmente de timina, através de ligações covalentes. Os raios ultravioletas não penetram tão bem quanto os raios X, mas são prontamente absorvidos por alguns pontos específicos do indivíduo.

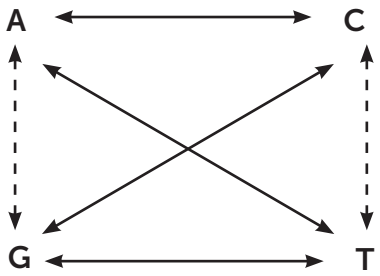
As mutações podem ocorrer em consequência dos processos de adição, deleção, substituição, silenciosa, sem sentido e no sentido errado.

A adição ou a deleção de bases é definida pela inclusão ou retirada de uma ou mais bases na sequência de DNA e, consequentemente, poderá alterar o mRNA

correspondente e o aminoácido incluído na cadeia polipeptídica, produzindo uma enzima que pode ter sua especificidade alterada ou perder sua afinidade com o substrato, de tal forma que é possível ter uma nova expressão fenotípica.

A substituição de bases numa sequência de DNA pode ocorrer de forma que haja a substituição de uma purina (adenina e guanina) por outra purina ou de uma pirimidina (citosina e timina) por outra pirimidina, denominada transição. Outra forma de ocorrência é a substituição de uma purina por uma pirimidina, ou vice-versa, denominada transversão (Figura 1.1).

Figura 1.1 | Esquema de substituição por meio de transversão (linha contínuas) e transição (linhas tracejadas)



Fonte: elaborada pelo autor.

As purinas e as pirimidinas podem existir sob várias formas alternativas, ou tautômeros. A tautomerização ocorre devido aos átomos de hidrogênio poderem mover-se de uma posição para outra nessas bases, causando o pareamento irregular durante a replicação do DNA. Por exemplo, adenina no seu estado normal amino forma pontes de hidrogênio com a timina, mas na forma tautomérica imino pode se parear com a citosina. De forma análoga, a timina no estado ceto se pareia com a adenina, mas na forma tautomérica enólica é capaz de se parear com a guanina. As bases em suas formas tautoméricas são menos estáveis e muito raras. Entretanto, se a base estiver na sua forma rara no momento em que estiver sendo replicada, pode ocorrer uma substituição de bases, ou seja, uma mutação.

A mutação silenciosa acontece quando uma substituição de bases no DNA não altera a sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica. Por exemplo, seja 3' UUA 5' a sequência de bases da cadeia molde de um segmento de DNA, e o aminoácido codificado por esse segmento é a leucina. Se a adenina no códon anterior for substituída por uma guanina, o códon mutante será 3' UUG 5', o qual também codifica o aminoácido leucina. Portanto, a ocorrência de uma mutação no DNA não causa nenhuma consequência à cadeia polipeptídica.

A mutação de sentido errado ocorre quando a substituição de uma base no DNA acarreta alteração em um aminoácido na cadeia polipeptídica. Por exemplo, considerando que no códon anterior 3' UUA 5' a adenina seja trocada por citosina,

teremos 3' UUC 5', que por sua vez, codifica o aminoácido fenilalanina. Geralmente, nesse caso, resulta em uma proteína com propriedades diferentes, podendo formar de um novo fenótipo.

Outra forma de mutação que ocorre é a sem sentido, que é quando de uma troca de bases no DNA surge um dos códons de terminação no mRNA, impedindo a síntese completa da cadeia polipeptídica. Por exemplo, se a guanina for substituída pela timina no códon 3' AGC 5', teremos 3' ATC 5', que será transcrito em 5' UAG 3' no mRNA, sendo esse um códon de terminação.

Reflita

Vimos que a mutação é de extrema importância para aumentar a variabilidade, já que pode auxiliar no aumento da produtividade, na melhoria da qualidade, na resistência a pragas e doenças, entre outras. Prezado aluno, como seria possível induzir uma mutação em um programa de melhoramento?

Leis da dominância: primeiramente, para entendermos sobre as leis da dominância, veremos o que é heterozigoto e homozigoto. O indivíduo é heterozigoto quando apresenta alelos diferentes de um mesmo gene. Já o homozigoto é quando o genótipo apresenta alelos iguais para um mesmo gene.

As interações alélicas são as que se manifestam entre os alelos de um mesmo gene. Essas interações influenciam a relação fenotípica e genotípica esperadas na descendência de cruzamentos, e o seu conhecimento permite ao pesquisador estabelecer cruzamentos direcionados, visando diferentes estratégias de seleção. As formas de interações alélicas são de dominância completa, dominância incompleta, codominância e genes letais.

Dominância completa é um tipo de interação entre alelos diferentes de um mesmo gene. Isso ocorre quando um alelo é capaz de suprimir a manifestação do outro, quando em heterozigose. O fenótipo do heterozigoto é igual ao apresentado por um dos homozigotos, que é o dominante. Tal fato ocorre devido à expressão de apenas um dos alelos no heterozigoto, entretanto o fenótipo produzido é igual ao do homozigoto dominante. Um exemplo é o gene V/v em ervilha, em que o alelo V determina cotilédones de cor amarela e v cotilédones de cor verde. Portanto, o gene com alelos Vv tem os cotilédones de cor amarela, da mesma cor das plantas com os alelos VV. Já o gene com alelos vv confere aos cotilédones a cor verde.

Na dominância incompleta, apenas um dos dois alelos expressa-se no heterozigoto, como em dominância completa. No entanto, o fenótipo produzido é diferente e intermediário àqueles apresentados pelos homozigotos, que são os pais (homozigoto

dominante e recessivo). Acredita-se que exista um efeito de dosagem que proporciona diferença quantitativa do produto obtido pela transcrição. Tal fato ocorre devido à quantidade do produto final da via metabólica ser menor do que no homozigoto e, por consequência, a expressão do heterozigoto é intermediária. Um exemplo é a ação do gene r^1/r^2 para a forma da raiz do rabanete. Os alelos r^1r^1 conferem raiz longa e o r^2r^2, raiz esférica no rabanete. Ao cruzar esses dois genótipos, terá os alelos r^1r^2, que resultarão na raiz oval.

A codominância é um tipo de interação que se verifica entre alelos diferentes de um mesmo gene. No entanto, nesse caso, ambos os alelos se expressam integralmente no heterozigoto, sendo transcritos em proteína que resulta na manifestação fenotípica do indivíduo. Assim, o heterozigoto é de fenótipo distinto em relação aos dos dois homozigotos. Um exemplo é a resistência do linho a duas raças de ferrugem. A planta M^1M^1 é resistente à raça 1, a planta M^2M^2 é resistente à raça. A planta resultante do cruzamento dessas duas plantas tem os alelos M^1M^2 e é resistente às duas raças. Portanto, em uma área na qual ocorra as duas raças de ferrugem, o recomendado é o genótipo heterozigoto para esse gene.

Os genes letais são todo e qualquer tipo de interação entre alelos de um mesmo gene, ou de genes diferentes, cuja manifestação fenotípica é a morte do indivíduo. Os alelos letais surgem da mesma forma que outros alelos, ou seja, por mutações de um alelo normal. Como exemplo, o gene C/c, que controla a quantidade de clorofila na flor ornamental boca-de-leão. Se o heterozigoto autofecundar, terá 25% de CC (folhas verdes), 50% de Cc (folhas verde claro), e 25% cc abortam, pois a forma alélica cc é letal. Esse tipo de interação altera tanto as proporções fenotípicas quanto genotípicas, de modo que a proporção em uma progênie descendente de cruzamento entre indivíduos afetados é de 1 folha verde: 2 folhas verdes clara: 1 morto.

Leis da segregação: o termo controle genético monogênica é utilizado para os casos em que os genitores diferem em somente uma característica, controlada por um gene. Há geneticistas que utilizam esse termo para qualquer cruzamento em que somente uma característica controlada por um gene está sendo considerada, não interessando se os genitores diferem em outros caracteres. Como é determinado o controle genético de um caráter? Para respondermos a essa questão, temos de estudar a primeira e a segunda lei de Mendel.

1ª Lei de Mendel – lei da segregação

Mendel realizou seus trabalhos envolvendo genitores contrastantes de ervilhas em relação a cada um dos sete caracteres que escolheu para estudos. A partir da análise dos resultados, foi proposto um modelo que explicasse a transmissão das características hereditárias nessa espécie.

A hipótese formulada por Mendel era a de que cada indivíduo teria dois fatores para o controle da característica, entretanto somente um deles era capaz de passar para a próxima geração. Em todas as situações avaliadas, a hipótese se mostrava adequada para elucidar o fenômeno biológico estudado. Esse fato o levou a enunciar sua primeira teoria em relação à herança de características, que hoje é conhecida como a primeira lei de Mendel. A partir dessa teoria, foi estabelecido que os fatores genéticos (hoje chamados de alelos) ocorriam aos pares nos indivíduos, mas apenas um era transferido ao descendente por intermédio de seus gametas. Em suma, a primeira lei de Mendel é a lei da segregação independente dos gametas.

Um exemplo é a altura de planta na ervilha, sendo que o gene na sua forma alélica AA confere planta alta e na forma aa o porte baixo. Após o cruzamento entre essas duas plantas, terá o filho da primeira geração (denominado F_1) heterozigoto Aa, sendo uma planta alta. Após uma autofecundação, os filhos da segunda geração (denominado F_2) obterão os AA (25%), Aa (50%) e aa (25%), com uma segregação fenotípica 3 (planta alta) : 1 (planta baixa). Tal fato ocorreu devido à forma de interação alélica, que é de dominância completa (Quadro 1.1).

Quadro 1.1 | Segregação genotípica e fenotípica em F_2 para a característica altura de planta em ervilha

Gametas F_1	A	a
A	AA (alta)	Aa (alta)
a	Aa (alta)	aa (baixa)

Fonte: elaborado pelo autor.

A primeira lei de Mendel é consequência da segregação dos alelos durante o processo meiótico. Assim, por meio dos processos de gametogênese e fertilização, é compreensível que um indivíduo Aa produza gametas contendo apenas alelos A ou a. Dessa forma, a expectativa é que se formem gametas contendo alelos A ou a em igual probabilidade, 50% para cada alelo.

Havendo o acasalamento entre os indivíduos Aa, espera-se que zigotos AA, resultantes do encontro de gametas A, tenham probabilidade igual a 1/4, dada pelo produto da probabilidade de cada gameta contendo A. Adotando o mesmo raciocínio, há expectativa de se encontrar na geração F_2 1/4 de AA, 2/4 de Aa e 1/4 de aa.

Pesquise mais

A ferrugem (*Puccinia psidii*) é uma doença muito importante na cultura do eucalipto. Sendo assim, convidamos você a ler um artigo publicado por Teixeira et al. (2009), intitulado *Análise da herança da resistência a Puccinia*

psidii em progênies de híbridos interespecíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção.

TEIXEIRA, J. E. C. et al. Análise da herança da resistência a *Puccinia psidii* em progênies de híbridos interespecíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 4, p. 203-210, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/tpp/v34n4/v34n4a01.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2016.

2ª Lei de Mendel – lei da distribuição independente

A segunda lei de Mendel está diretamente ligada com a hereditariedade, pois trata-se da análise conjunta de pares de caracteres, sendo que cada um é controlado por um gene com dois alelos cuja segregação de um é independente da segregação dos alelos do outro gene. A segregação é independente quando segue o princípio probabilístico aplicável a eventos independentes, em que a probabilidade de um evento composto é dado pelo produto das suas probabilidades individuais, ou seja, P(A e B) = P(A) x P(B). Em genética, dois genes são considerados independentes quando a probabilidade de segregação conjunta pode ser estimada pelo produto das probabilidades de segregação individuais, sendo que os genes localizam-se em cromossomos diferentes.

Nos estudos realizados por Mendel, observou-se que a relação fenotípica esperada para característica controlada por um gene, com dominância completa, é de 3:1. Considerando simultaneamente as duas características, tem-se, na descendência de um duplo-heterozigoto, a proporção fenotípica 9:3:3:1, denominada relação fenotípica clássica ou mendeliana.

Um exemplo é a característica cor de cotilédones em ervilha, sendo amarelo (V_) ou verde (vv), e aspecto da casca, lisa (R_) ou rugosa (rr). Mendel utilizou duas linhagens homozigóticas (VVrr x vvRR) e observou que as plantas F_1 (VvRr) possuíam as sementes amarelas e de textura lisa. Ao autofecundar as plantas F1, obteve a proporção de 9(V_R_):3 (V_rr): 3 (vvR_): 1 (vvrr). As segregações desse experimento encontram-se no Quadro 1.2. Após verificar o modo de transmissão dos genes que regulavam os vários caracteres isoladamente, Mendel passou a investigar como eram transmitidos em conjunto os alelos pertencentes a genes diferentes. A partir dos dados de seus ensaios, já se tinha o conhecimento prévio sobre o controle de cada uma das características analisadas. Assim, a segunda lei de Mendel é conhecida como a lei da distribuição independente.

Quadro 1.2 | Segregação genotípica e fenotípica em F_2 para as características cor dos cotilédones e textura de sementes de ervilha

Gametas F_1	VR	Vr	vR	vr
VR	VVRR (amarelo; liso)	VVRr (amarelo; liso)	VvRR (amarelo; liso)	VvRr (amarelo; liso)
Vr	VVRr (amarelo; liso)	VVrr (amarelo; rugoso)	VvRr (amarelo; liso)	Vvrr (amarelo; rugoso)
vR	VvRR (amarelo; liso)	VvRr (amarelo; liso)	vvRR (verde; liso)	vvRr (verde; liso)
vr	VvRr (amarelo; liso)	Vvrr (amarelo; rugoso)	vvRr (verde; liso)	vvrr (verde; rugoso)

Fonte: elaborado pelo autor.

Assimile

Caro aluno, destacamos aqui dois conceitos muito importantes para você assimilar: a primeira lei de Mendel, que é a segregação dos gametas numa proporção de 3:1, quando a interação alélica é de dominância completa. Outro conceito importante para entendermos o mendelismo é a segunda lei de Mendel, a lei da distribuição independente, quando dois genes que estão em cromossomos diferentes seguem a segregação de 9:3:3:1.

Importância dos estudos de Mendel: até o momento, vimos os princípios básicos apresentados nos experimentos de Mendel, que foram utilizados para a formulação da primeira e segunda lei, os quais foram aplicados a um e dois genes, respectivamente. A generalização para vários genes com segregação independente pode ser facilmente realizada, aplicando-se os conhecimentos para cada um individualmente e, posteriormente, fazendo-se a análise global, de todos os genes envolvidos, considerando o princípio probabilístico aplicado a eventos independentes. Dessa forma, podem-se generalizar os resultados a serem obtidos quando se considera o cruzamento entre indivíduos que apresentam n genes em heterozigose. Portanto, para uma quantidade n de genes, têm-se 2^n gametas, 3^n genótipos e 2^n fenótipos diferentes na F_2, com dominância completa entre os alelos.

Para comprovar as segregações, Mendel realizou experimentos e testou as hipóteses por meio da ferramenta estatística qui-quadrado (X^2). Um exemplo dos experimentos é referente à cor das sementes de ervilha, que, quando autofecundou as sementes F1 (Vv), obteve os seguintes resultados: 6.022 sementes amarelas e 2.001 sementes verdes, sendo essas as frequências observadas (Tabela 1.1). Sabe-se que na geração F_2 há segregação que se aproxima de uma relação de 3:1, quando a interação alélica é dominância completa. Sendo essa, a hipótese testada por Mendel. Assim, o teste de qui-quadrado (x^2) utiliza a expressão:

$$x^2 = \sum \frac{(frequência_observada - frequência_esperada)^2}{Frequência_esperada}$$

Tabela 1.1 | Segregação obtida nos estudos de Mendel para a característica cor de semente de ervilha

Fenótipos	Segregação esperada	Observado (O)	Esperado (E)	Desvio O-E	$(O-E)^2/E$
Amarelas	3	6.022	6.017,25	4,75	0,0037
Verdes	1	2.001	2.005,75	-4,75	0,0112
Total	4	8.023			X^2 = 0,0149

Fonte: elaborada pelo autor.

Na Tabela 1.1, a frequência esperada é estimada dividindo-se o total observado por 4 (3+1). Dessa forma, 2.005,75 (uma parte) corresponde à frequência esperada das sementes verdes e 6.017,25 (3 x 2.005,75) é a frequência esperada das sementes amarelas. Posteriormente, segue o que está indicando na Tabela 1.1. No final, têm-se a estimativa de X^2 calculado, que é 0,0149. Esta estimativa deve ser comparada com o valor tabelado. O valor tabelado, ao nível de 5% de probabilidade, é comumente utilizado pelos melhoristas, e um grau de liberdade (duas variáveis -1) é X^2 = 3,84. Como o valor calculado é menor que o tabelado, dizemos que o X^2 calculado não é significativo. Portanto, aceita-se a hipótese de segregação de 3:1.

Uma das consequências direta dos trabalhos de Mendel é a hibridação. A hibridação entre espécies florestais é uma ferramenta importante em melhoramento genético. Tem sido utilizada visando à obtenção da heterose de determinados caracteres como forma de reunir em um mesmo genótipo características presentes em diferentes espécies, em busca da complementação de características. Após os cruzamentos, os indivíduos que reúnem as características desejadas são selecionados. Um exemplo típico, no Brasil, é a hibridação entre *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophyla*, visando à seleção de indivíduos resistentes ao cancro e com alta produção volumétrica de madeira.

Exemplificando

Um bom exemplo para a aula de hoje é a indução de mutação por meios artificiais. Dessa forma, é possível gerar novos alelos que podem conferir à planta uma característica desejável, como resistência à doença. A interação alélica desse novo alelo pode ser estudada por meio da genética mendeliana.

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada inicialmente?

Nela, você assumiu o papel de um trainee de uma empresa de melhoramento florestal que está acompanhando os melhoristas da empresa em um projeto com uma espécie perene e arbórea. Esse é o momento da confecção da segunda parte do seu relatório, e o seu grupo de trabalho verificou que, durante o estudo com a espécie arbórea: (i) algumas plantas mutantes foram obtidas no laboratório de cultura de células e que (ii) algumas progênies da espécie estudada são resistentes à ferrugem, e foram provenientes de um cruzamento entre indivíduos resistentes e susceptíveis à doença. Portanto, agora, você deve responder aos seguintes questionamentos para cumprir a segunda etapa do seu relatório: (i) o que é mutação? Quais formas de mutação podem existir? Quais seriam as implicações da mutação na espécie estudada? (ii) quais são as leis de dominância? Como é possível explicar, de forma breve, o motivo da progênie ser resistente à ferrugem, uma vez que um de seus descendentes era suscetível à doença? (iii) quais são as leis de Mendel e em que elas afetam no melhoramento dessa espécie?

Dessa forma, começaremos a responder aos questionamentos sobre mutação. Mutações são todas as mudanças que ocorrem no DNA de qualquer organismo, sendo essas mudanças transmitidas para as próximas gerações. Outra definição encontrada é de que todo o processo em um gene resulta em mudança estrutural. As mutações podem ocorrer pelas seguintes formas: deleção, adição ou substituição de um ou poucos nucleotídeos da fita de DNA, mutação sem sentido ou no sentido errado.

Após definirmos mutação e sabermos em quais formas existem, precisamos refletir sobre como ela pode influenciar na espécie que estamos acompanhando. A principal implicação à espécie estudada é que pode ocorrer uma mutação para um determinado gene e, por exemplo, um genótipo que era suscetível a uma doença passa a ser resistente, o que melhorará a qualidade da madeira, já que o objetivo da empresa é o de aumentar a produção de lenha.

Em suma, a mutação gerará para essa espécie perene, alvo do seu estudo, novas formas alélicas que antes não existiam na população, aumentando a variabilidade da espécie. Essas novas formas poderão ter diferentes interações alélicas, sendo que essas se manifestam entre os alelos de um mesmo gene.

As interações alélicas influenciam a relação fenotípica e a genotípica. As formas dessas interações podem ser de dominância completa, dominância incompleta, codominância ou de genes letais.

Com relação às progênies resistentes à ferrugem, podemos inferir que essa

resistência à doença ocorre devido à presença de um gene dominante, herdado de um genótipo parental resistente, que, ao cruzar com outro susceptível à doença, gerou progênies (F2) resistentes à ferrugem.

Por fim, sobre as leis de Mendel, ressalte que são duas, sendo a primeira a lei da segregação independente dos alelos durante o processo meiótico. Assim, um indivíduo Aa produz gametas contendo apenas alelos A ou a. Dessa forma, a expectativa é que se formem gametas contendo alelos A ou a em igual probabilidade, 50% para cada alelo. Já a segunda lei de Mendel é a lei da distribuição independente e está diretamente ligada com a hereditariedade, pois trata-se da análise conjunta de pares de caracteres, sendo que cada um é controlado por um gene com dois alelos, cuja segregação de um é independe da segregação dos alelos do outro gene. Em genética, dois genes são considerados independentes quando a probabilidade de segregação conjunta pode ser estimada pelo produto das probabilidades de segregação individuais, sendo que os genes localizam-se em cromossomos diferentes.

Imaginemos a primeira lei de Mendel com o exemplo da resistência à ferrugem para entendermos como essa lei afeta o melhoramento da espécie em estudo, sendo o alelo F dominante, que condiciona a resistência à doença, e o alelo f o recessivo, proveniente de plantas susceptíveis à doença. As plantas que cruzaremos são heterozigotas (Quadro 1.3) e isso explica, por exemplo, o surgimento das progênies resistentes a doenças em seu estudo.

Quadro 1.3 | Segregação dos alelos para resistência à ferrugem entre genótipos heterozigoto e homozigoto

Genótipo / Genótipo	Heterozigoto	
	F	f
Homozigoto		
f	Ff (resistente)	ff (suscetível)
f	Ff (resistente)	ff (suscetível)

Fonte: elaborada pelo autor.

Resumidamente, para essa segunda fase do seu relatório, a ideia é que você tenha em mente o que é mutação, leis de dominância e leis de Mendel. Tente assimilar esses conceitos com a espécie em estudo, aprofundando-se mais em algumas características em que ocorrem tais efeitos.

Avançando na prática

Teste de segregação mendeliana na cultura do eucalipto

Descrição da situação-problema

Imagine que você está terminando o seu curso de Engenharia Florestal. Vamos supor que o seu trabalho de conclusão de curso seja estudar a herança da ferrugem (*Puccina psidii*) e do cancro (*Cryphonectria cubensis*) no eucalipto. A hipótese a ser testada é a de que ambas são de dominância completa para resistência e seguem a segregação mendeliana, sendo que a hipótese de segregação conjunta será de 9:3:3:1.

Para testar tal hipótese, foi realizado um experimento juntamente a uma empresa de eucalipto, com a supervisão do melhorista responsável pelo programa de melhoramento. Primeiramente, foi realizado o cruzamento entre dois genótipos em heterozigose para os dois genes (FfCc), que aqui serão representados como Ff para ferrugem e Cc para o cancro. Ao analisar o experimento, você coletou as seguintes informações: 341 plantas resistentes a ambas; 112 resistentes ao cancro e suscetível à ferrugem; 116 resistentes à ferrugem e suscetíveis ao cancro; 39 suscetíveis a ambas.

Portanto, a hipótese está correta?

Resolução da situação-problema

Primeiramente, deve-se encontrar o número total de plantas, que é: 341 + 112 + 116 + 39 = 608 plantas. Posterirormente, divida o total por 16 (9+3+3+1): 608/16 = 38. Para encontrar os valores da segregação esperada, multiplique por 9 (342 plantas) e por 3 (114 plantas). Para a segregação de duplo recessivo, usa-se 38. Agora, podemos calcular o teste de qui-quadrado (x^2), que se encontra na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 | Segregações oriundas do cruzamento entre dois genótipos em heterozigose para os genes de resistência à ferrugem e ao cancro e a estimativa do X^2 para testar a hipótese de segregação de 9:3:3:1 na cultura do eucalipto

Fenótipos	Observado (O)	Esperado (E)	Desvio O-E	$(O-E)^2/E$
Resistentes à ferrugem e ao cancro	341	342	-1	0,003
Resistentes ao cancro e não à ferrugem	112	114	-2	0,035
Resistentes à ferrugem e não ao cancro	116	114	2	0,035
Não resistentes à ferrugem e ao cancro	39	38	1	0,026
Total	608	608		$X^2 = 0,099$

Fonte: elaborada pelo autor.

Observa-se que a estimativa de X^2 calculado é de 0,099. Essa estimativa deve ser comparada com o valor tabelado. O valor oriundo da tabela de X^2, ao nível de 5% de probabilidade, que é comumente utilizado pelos melhoristas, e três graus de liberdade (quatro variáveis -1) é X^2 = 7,82. Como o valor calculado é menor que o tabelado, dizemos que o X^2 calculado não é significativo. Portanto, a hipótese de segregação de 9:3:3:1 está correta.

Faça valer a pena

1. Sabe-se que as mutações são mudanças que ocorrem no DNA de qualquer organismo, e que essas mudanças são transmitidas para as próximas gerações. Outra definição de mutação que pode ser encontrada é "todo processo em um gene resulta mudança estrutural".

Assim, as mutações podem ocorrer em qualquer organismo e de várias formas. Qual dos processos de mutações a seguir é incorreto?

a) Substituição.

b) Adição.

c) Sem sentido.

d) Sentido errado.

e) Sentido correto.

2. As interações alélicas são as que se manifestam entre os alelos de um mesmo gene. Essas interações influenciam a relação fenotípica e genotípica esperadas na descendência de cruzamentos e o seu conhecimento permite ao pesquisador estabelecer cruzamentos direcionados.

Do exposto, pode-se afirmar que:

I – Dominância completa é um tipo de interação entre alelos diferentes de um mesmo gene em que um alelo é capaz de suprimir a manifestação do outro, quando em heterozigose.

II – Na dominância incompleta, apenas um dos dois alelos se expressa no heterozigoto e o fenótipo do heterozigoto é igual ao fenótipo do homozigoto dominante.

III – Codominância é um tipo de interação em que ambos os alelos se expressam integralmente no heterozigoto. Assim, o fenótipo do heterozigoto será diferente dos pais.

Marque a alternativa que se correlaciona corretamente com as afirmações apresentadas.

a) A afirmativa I está correta, a II errada e a III correta.

b) A afirmativa I está correta, a II correta e a III correta.

c) A afirmativa I está correta, a II errada e a III errada.

d) A afirmativa I está errada, a II errada e a III correta.

e) A afirmativa I está errada, a II correta e a III correta.

3. O termo controle genético monogênica é utilizado para os casos em que os genitores diferem em somente uma característica controlada por um gene. Há geneticistas que utilizam esse termo para qualquer cruzamento em que somente uma característica controlada por um gene está sendo considerada, não interessando se os genitores se diferem em outros caracteres.

Assim, sabe-se que as leis de Mendel são duas. Qual é a segunda lei de Mendel?

a) A segunda lei de Mendel é a lei da segregação independente.

b) A segunda lei de Mendel é a lei da distribuição dependente.

c) A segunda lei de Mendel é a lei da distribuição independente.

d) A segunda lei de Mendel é a lei da segregação dependente.

e) A segunda lei de Mendel é a lei da distribuição direcionada.

Seção 1.3

Herança genética

Diálogo aberto

Caro aluno, vamos continuar nossos estudos para melhor compreendermos o melhoramento florestal e a biotecnologia? Vimos até agora os principais aspectos sobre a história do melhoramento, os conceitos genéticos, os objetivos e impactos do melhoramento, também estudamos a mutação, as leis de Mendel e o quão elas são importantes. Para finalizarmos a nossa jornada na direção de conhecer e ser capaz de identificar os principais fundamentos relacionados à genética e melhoramento florestal, estudaremos a herança genética.

Você se lembra do *Convite ao estudo* apresentado inicialmente? Nele, você assumiu o papel de trainee em uma empresa de melhoramento e sua função era a de elaborar um relatório sobre a aplicação dos conceitos dos princípios de genética e melhoramento florestal, tendo como base um projeto com uma espécie arbórea visando à produtividade de lenha. Você já redigiu as duas primeiras partes do documento, no qual, primeiramente, definimos o que é o melhoramento, como ele funciona e quais os possíveis impactos que terá na região de ocorrência dessa espécie e na própria cultura e, posteriormente, redigiu quais são as leis de Mendel implícitas no melhoramento da espécie-alvo e como elas funcionam, assim como os efeitos da mutação na planta.

Seus colegas verificaram, após análises no laboratório de biologia molecular e experimentos de campo, que indivíduos da espécie-alvo de estudo apresentaram, para a produtividade de madeira, alelos múltiplos relacionados ao caráter, mas com um gene relacionado à característica de altura, que é uma característica quantitativa de interesse comercial, e essa está correlacionada com outras características, como diâmetro à altura do peito (DAP) e produtividade de lenha. Agora, para aplicar os seus conhecimentos e finalizar o relatório, você deve responder: o que são alelos múltiplos? Como eles são representados? Quais suas implicações na espécie estudada? Como chamamos a propriedade de um gene de ser capaz de determinar mais de uma característica fenotípica, como é o caso da espécie que está sendo estudada? Quais as implicações dessa propriedade no melhoramento?

Nesta seção, que finalizará a nossa primeira unidade de ensino, teremos subsídios para resolvermos tais questionamentos. Para tal, serão abordados os principais aspectos sobre o pós-Mendel, modos de herança, epistasia, pleiotropia e herança sexual.

Boa leitura!

Não pode faltar

Como vimos na Seção 1.1, Gregor Mendel estabeleceu, pela primeira vez, os padrões de hereditariedade de algumas características da ervilha. Dessa forma, mostrou que essas seguiam regras estatísticas. Embora nem todas as características sigam esses padrões de herança, o trabalho de Mendel provou que a aplicação da estatística à genética poderia ser de grande utilidade.

Vimos também que alelos são formas alternativas de um mesmo gene. Assim, os efeitos gênicos desses alelos dependem das relações intra-alélicas (de suas relações). A origem dos diferentes alelos são as mutações (estudamos na Seção 1.2), que podem causar alterações estruturais nos genes. Essas alterações permitem que um determinado gene possa ter mais de dois alelos; tal fato é chamado de alelos múltiplos. O alelismo múltiplo é uma série constituída de três ou mais alelos pertencentes a um mesmo gene, ocorrendo dois a dois em uma espécie diploide.

Os alelos múltiplos são representados pela mesma letra dos alelos, acompanhada de um expoente, que serve de diferenciação. Dessa forma, uma série alélica de um gene A pode ser representada por A^1, A^2, A^3, A^4, até A^n, sendo "n" o número de alelos existentes para um determinado gene.

Assimile

Nós estudamos nas seções anteriores sobre Mendel, e neste tópico estamos estudando sobre alelos múltiplos, que foram descobertos na era pós-Mendel. Vimos aqui que os alelos múltiplos podem ser inúmeros dentro de uma população. Assimile juntamente aos conhecimentos já adquiridos, como mutações, leis de dominância e de segregação, a importância dos alelos múltiplos para a variabilidade genética e para o melhoramento florestal.

Modos de herança: você se lembra da Seção 1.2? Nela, tratamos da herança mendeliana, além de termos visto que a herança monogênica envolve apenas um gene e a oligogênica, poucos genes. Lembre-se de que nessa herança estão incluídas a primeira e a segunda lei de Mendel. Características que seguem dessa forma são denominadas qualitativas.

Entretanto, nem todas as características apresentam-se da forma descrita anteriormente. A produtividade de madeira, em uma população, pode variar amplamente, e, se for feito um estudo de sua segregação, iremos encontrar uma distribuição essencialmente contínua, isto é, entre os tipos mais extremos aparecem inúmeros fenótipos intermediários. Muitas outras características se expressam dessa forma. Vale ressaltar que a maioria das características de interesse econômico, com as quais os melhoristas normalmente trabalham, apresenta segregação contínua, ou seja, são características que possuem herança quantitativa, como altura e ciclo vegetativo de plantas.

É importante salientar que a herança quantitativa é ocasionada por meio das características quantitativas, ou seja, aquelas controladas por vários genes, e muito influenciada pelo ambiente. Já as características qualitativas são de herança monogênica ou oligogênica e têm pouca ou nenhuma influência do ambiente.

Os estudos da herança e da variação de caracteres qualitativos se baseiam na análise de gerações, separando os indivíduos em classes e avaliando suas proporções nos resultados de cruzamentos, como vimos anteriormente. Entretanto, no estudo da herança de caracteres quantitativos, a informação do indivíduo tem pouco valor devido ao efeito aleatório do ambiente.

O efeito do ambiente pode tanto aumentar quanto diminuir a expressão fenotípica do caráter, sendo a média de um conjunto de indivíduos uma medida mais confiável, pois os efeitos do ambiente tendem a se cancelar. Assim, as características quantitativas são estudadas em nível de população.

Além das heranças qualitativas e quantitativas, existe um outro grupo de característica que apresenta herança condicionada por genes presentes no citoplasma, apresentando, portanto, herança extranuclear. Como o gameta feminino contribui com quase a totalidade do citoplasma para o descendente, a herança do tipo extranuclear apresenta-se de modo diferente e os principais critérios que a identificam são o efeito materno e a falta de segregação mendeliana.

A herança extranuclear geralmente envolve o DNA de organelas citoplasmáticas que se replicam, como as mitocôndrias e os plastídeos, encontrados em eucariotas e em procariotos, respectivamente.

Reflita

Prezado aluno, estudamos que as heranças genéticas podem ser qualitativas, quando nelas estão envolvidos um ou poucos genes. Outro modo de herança que vimos foi a herança quantitativa. Nesse caso, são envolvidos muitos genes e essa segue uma segregação contínua, ou seja, tem-se muitos fenótipos diferentes oriundos de um mesmo cruzamento.

Também foi estudado foi o modo de herança extranuclear, cujo principal efeito é o materno. Esses modos de herança ocorrem em uma mesma espécie ao mesmo tempo?

Epistasia e pleiotropia: vimos na seção anterior que uma característica pode ser controlada por um gene ou mais. Vimos também que, quando controlada por dois genes em cromossomos diferentes, que foram cruzados entre genótipos heterozigotos, a segregação será 9:3:3:1. Caso essa proporção seja alterada, uma hipótese é que haja epistasia.

A epistasia é uma interação gênica. Essa interação ocorre quando, pelo menos, dois genes influenciam uma determinada caraterística. Esses genes podem, ou não, estar localizados em um mesmo cromossomo. Assim, diz-se que um gene é epistático quando ele inibe a expressão do outro gene. Esse último gene, cuja expressão é inibida, recebe a denominação de hipostático.

É importante ressaltar que, quando se verifica epistasia entre dois genes, os fenótipos dos descendentes serão menores que quatro, modificando a segregação 9:3:3:1, da primeira lei de Mendel.

As interações do tipo epistáticas podem apresentar as seguintes formas (CRUZ et al., 2011):

a) configura epistasia o momento em que pelo menos dois genes são responsáveis pela produção de enzimas que podem catalisar diferentes etapas de uma via biossintética. Sendo que as enzimas produzidas por genes que atuam no início da via biossintética (substância percursora) podem ser modificadas pela ação de outros genes na formação do produto final, ou seja, na expressão fenotípica.

b) outra forma de epistasia ocorre pela supressão gênica. Nesse caso, alelos de um determinado gene suprimem a expressão do alelo pertencente a outro gene;

c) quando um produto de um gene é convertido em um outro produto por outro gene, mascarando a ação ou produto do primeiro gene.

Existem, também, seis tipos de epistasia, que são: epistasia dominante; epistasia recessiva; genes duplos dominantes com efeito cumulativo; genes duplos dominantes sem o efeito cumulativo; epistasia recessiva dupla; epistasia dominante e recessiva.

1- Epistasia dominante: para entendermos a epistasia dominante, suponhamos que os genes A, com alelos A e a, e B, com alelos B e b, controlam uma determinada característica. Quando o alelo A suprime a ação do gene B/b, temos, portanto, um caso de epistasia dominante. Assim, a relação fenotípica esperada é 12:3:1.

2- Epistasia recessiva: para melhor entendermos essa interação, consideramos os genes C, com alelos C e c, e D, com alelos D e d, controlando uma mesma característica. Observa-se que nesse tipo de interação a constituição recessiva cc é epistática ao gene D (DD ou Dd), suprimindo sua ação. Dessa forma, caracteriza-se como epistasia recessiva. Assim, a relação fenotípica esperada é, portanto, 9:3:4.

3- Genes duplos dominantes com efeito cumulativo: consideramos nesse uma característica controlada pelos genes E, com alelos E/e, e o gene F, com alelos F/f. Como a ação do alelo E, no genótipo E-ff, e a ação do alelo F, no genótipo F-ee, são as mesmas, ou seja, produzem o mesmo fenótipo, acredita-se que os genes E/e e F/f sejam genes duplicados. Entretanto, a ação simultânea dos dois alelos dominantes, no genótipo A-B, resulta num fenótipo diferente de quando está presente apenas uma delas, evidenciando o efeito cumulativo. Assim, a relação fenotípica esperada é, portanto, 9:6:1.

4- Genes duplos dominantes sem efeito cumulativo: para entendermos essa interação, consideramos os genes G, com alelos G e g, e H, com alelos H e h, controlando uma mesma característica. O fenótipo resultante da ação de apenas um dos alelos, G ou H, é o mesmo, indicando que esses alelos têm a mesma função, ou seja, catalisam o mesmo passo de uma via biossintética. Acredita-se que durante a evolução tenha ocorrido uma duplicação gênica resultando nesses dois genes. Também verifica-se que a ação simultânea dos alelos G e H, no genótipo G-H-, resulta na mesma expressão fenotípica de quando estão presentes apenas um destes alelos, genótipos G-hh ou ggH-, evidenciando a ausência de efeito cumulativo. Dessa forma, a relação fenotípica esperada é, portanto, 15:1.

5- Epistasia recessiva dupla: para melhor entendermos a interação recessiva dupla, consideremos uma característica controlada pelos genes I, com alelos I e i, e J, com alelos J e j. Nesse caso, ii é epistático em relação a J/j, e jj é epistático em relação a I/i, caracterizando a epistasia recessiva dupla. Assim, a relação fenotípica esperada é, portanto, 9:7.

6- Epistasia dominante e recessiva: para melhor compreensão desse tipo de epistasia, consideremos uma característica controlada por dois genes, que são o gene L, com alelos L e l, e M, com alelos M e m. O alelo L é epistático em relação ao gene M/m e o alelo m é epistático em relação ao gene L/l, caracterizando a epistasia como dominante e recessiva. Considerando a ação dos genes L/l e M/m, a relação fenotípica esperada para esta epistasia é 13:3.

Você se lembra da seção anterior, sobre as leis de Mendel? Para provarmos a segregação da segunda lei de Mendel, usamos o teste de qui-quadrado. Para provar a segregação de qualquer tipo de epistasia, utiliza-se também esse teste estatístico. Para isso, deve-se substituir a segregação 9:3:3:1 pela segregação desejada da epistasia.

Outro fenômeno que devemos considerar é a pleiotropia, que ocorre quando um

único gene controla mais de um caráter. Efeitos pleiotrópicos são fundamentais em programas de melhoramento, pois são causas de correlação entre caracteres. Há grande interesse no estudo e no conhecimento da ação desses tipos de genes, pois, muitas vezes, eles são utilizados como marcadores, ou como auxiliares, no processo de seleção e/ou na identificação de caracteres mais complexos ou daqueles de difícil mensuração.

A correlação é um parâmetro estatístico que mede o grau de associação entre duas variáveis. Diz-se que duas variáveis estão correlacionadas quando a variação em uma delas é acompanhada por variação simultânea na outra. A correlação genética procura explicar, por meio de mecanismos genéticos, a variação conjunta de duas variáveis. Nesse contexto, a ligação gênica (genes no mesmo cromossomo) e pleiotropia são os fenômenos genéticos que explicam a ocorrência de correlações genéticas.

A pleiotropia é um fenômeno de grande importância para o melhoramento florestal, podendo ser útil ou prejudicial. Ela será útil quando os fenótipos associados forem favoráveis, ou seja, quando a melhora de um deles também contribuirá para o melhoramento do outro. O oposto também é verdadeiro, pois, se um fenótipo favorável estiver associado a outros desfavoráveis, a seleção do primeiro selecionará os demais que não são de interesse.

Exemplificando

Suponha que um determinado gene que confere resistência a uma determinada doença seja pleiotrópico e confere um determinado formato na folha. Dessa forma, se selecionarmos o genótipo em relação à folha, também selecionaremos a resistência. Outro exemplo: a produtividade de madeira em eucalipto está correlacionada com o diâmetro à altura do peito (DAP); quanto maior for o diâmetro, maior será a produtividade. Sendo assim, se selecionarmos genótipos com maiores diâmetros, consequentemente, selecionaremos genótipos mais produtivos.

Herança sexual: caro aluno, a função sexual vai além da reprodução, pois várias plantas têm a possibilidade de se reproduzirem de forma assexuada, como o eucalipto. No entanto, a reprodução sexuada tem uma segunda função biológica, que é a de promover a segregação e recombinação gênica.

A característica sexo sempre foi tratada como tendo um tipo especial de herança, uma vez que, na descendência de qualquer cruzamento, para a maioria das espécies, o resultado apresentado é sempre 1/2 macho : 1/2 fêmea. Tornou-se ainda de maior interesse uma vez constatada a existência de vários mecanismos envolvidos na determinação do sexo em diferentes espécies vegetais e animais. Atualmente, são reconhecidos os seguintes mecanismos de determinação do sexo: cromossomos

sexuais, balanço gênico, ginandromorfos, haplodiploidismo, efeito de genes e efeito do ambiente.

Muitas espécies têm suas determinações do sexo especificadas por cromossomos especiais denominados cromossomos sexuais. Esses são portadores de genes responsáveis pelos caracteres primários e secundários relacionados a cada um dos sexos. Com base nesses cromossomos, distinguem-se alguns sistemas, como: sistema XX e XY (mamíferos), sistema XX e XO (hemípteros e orthoptera) e sistema ZZ e ZW (borboletas, mariposas, alguns peixes e aves).

O mecanismo de determinação de sexo pelo balanço gênico é aplicável aos insetos do gênero *Drosophila*. Inicialmente, imaginou-se que o mecanismo de determinação de sexo nesses insetos seria semelhante ao apresentado pela espécie humana. Em observações citológicas feitas em células somáticas, constatou-se um conjunto diploide de 8 cromossomos (2x = 8, em que x representa o número básico de cromossomos da espécie), em que as fêmeas apresentavam constituição cromossômica 2A + XX e os machos 2A + XY. Estudos mais aprofundados mostraram que um indivíduo com um conjunto de cromossomos semelhante ao apresentado por uma fêmea, mas com um cromossomo X a menos, era do sexo masculino. Enquanto isso, indivíduos com um conjunto de cromossomos semelhante ao apresentado por um macho, embora faltando o cromossomo Y continuava a ser macho, porém estéril, indicando que o cromossomo Y, embora essencial para a fertilidade, aparentemente nada tinha a ver com a determinação do sexo. Também foi verificado que alterações no conjunto autossomal, tanto do conjunto cromossômico semelhante ao do macho quanto da fêmea, resultavam em alterações no sexo. Com base nessas observações, foi proposto que a determinação do sexo em *Drosophila* seria função de um índice sexual (I_s), que é função do balanço entre cromossomos X e conjuntos autosomais. Caso o índice seja menor que 0,5 é metamacho; se I_s for igual a 0,5 é macho; se I_s for entre 0,5 a 1 é intersexo; se o I_s for igual a 1 é fêmea; e se for maior que 1 é metafêmea.

Ginandromorfos são mosaicos sexuais nos quais algumas partes do animal apresentam características femininas e outras masculinas. Em alguns casos, tanto as genitálias e gônadas masculinas quanto as femininas podem estar presentes no mesmo animal. A frequência natural tem sido de 1/2000 ou 1/3000 em moscas, entretanto muitos desses ginandromorfos apresentam poucas secções revertidas, sendo os ginandromorfos bilaterais os mais raros. A frequência pode ser aumentada quando o indivíduo apresenta um cromossomo X em anel (ligado pelas extremidades).

O haplodiploidismo é um mecanismo complexo de determinação de sexo descrito para *Hymenopteros* (formigas, abelhas e vespas). Nas abelhas, o sexo masculino é definido pela condição haploide (ou monoploide) e o feminino pela condição diploide do indivíduo. As fêmeas, de organismos diploides, dependem da alimentação para adquirir fertilidade. A alimentação prolongada com geleia real possibilita a formação de rainhas que são responsáveis pela formação da colmeia.

Nos efeitos de genes, os que determinam as características primárias e secundárias relativas a cada um dos sexos não estão presentes em um par heteromórfico de cromossomos, sendo, portanto, genes autossomais. Assim, a relação sexual na progênie é dada segundo as proporções mendelianas. Um exemplo refere-se à ação dos genes B/b e T/t no milho. A condição B- determina a formação de uma planta normal e a condição homozigota recessiva (bb) determina a formação de uma planta com pendão, porém sem espigas no colmo. A condição T- também determina o padrão normal, contudo a condição recessiva deste gene (tt) determina a formação de uma planta que não apresenta pendão, o qual é substituído por uma estrutura pistilada.

Nos efeitos do ambiente, os machos e as fêmeas têm a mesma constituição genética, mas a diferenciação dos órgãos sexuais é dependente de estímulos ambientais. Um exemplo de determinação do sexo através do ambiente é encontrado no verme marinho *Bonellia viridis*, em que o macho, bem menor que a fêmea, vive dentro do aparelho reprodutivo da fêmea. A fêmea libera os ovos, já fertilizados, no meio aquático, os quais depois de eclodidos, diferenciam-se em machos e fêmeas. Os machos penetram através da abertura superior da fêmea e atingem o seu ovário. Aqueles ovos que se desenvolvem fora da fêmea, ou seja, livres, diferenciam-se em fêmeas.

Vale ressaltar que o dimorfismo sexual em plantas superiores é uma característica de menor importância quando comparada com os animais. De fato, a grande maioria das plantas é hermafrodita e, portanto, apresenta os dois sexos em uma mesma flor. No entanto, existem outros tipos de expressão sexual, tais como: monoicas (possuem órgãos masculinos e femininos em flores separadas, porém na mesma planta) e dioicas (possuem órgãos masculinos e femininos em plantas diferentes).

Pesquise mais

Estudamos nesta seção a importância dos modos de herança e os tipos de interações gênicas. Teixeira et al. (2013), em seu trabalho, cruzaram *Eucalyptus grandis* com *Eucalyptus urophylla* e avaliaram várias características importantes para o melhoramento florestal. Assim, convidamos você a ler este artigo.

TEIXEIRA, J. E. C. et al. Cruzamentos dialélicos entre clones elite de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 100, p. 497-505, dez. 2013. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr100/cap06.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2016.

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada incialmente? Seus colegas verificaram, após análises no laboratório de biologia molecular e experimentos de campo, que indivíduos da espécie-alvo de estudo apresentaram, para a produtividade de madeira, alelos múltiplos relacionados ao caráter, mas com um gene relacionado à característica de altura, que é uma característica quantitativa de interesse comercial, e essa está correlacionada com outras características, como diâmetro à altura do peito (DAP) e produtividade de lenha. Agora, para aplicar os seus conhecimentos e finalizar o relatório, você deve responder: o que são alelos múltiplos? Como eles são representados? Quais suas implicações na espécie estudada? Como chamamos a propriedade de um gene ser capaz de determinar mais de uma característica fenotípica, como no caso da espécie que está sendo estudada? Quais as implicações dessa propriedade no melhoramento?

Vimos que os alelos são formas alternativas de um mesmo gene e que seus efeitos dependem de suas relações, ou seja, das relações intra-alélicas. Assim, alelos múltiplos referem-se a uma série constituída de três ou mais alelos pertencentes a um mesmo gene, que ocorrem dois a dois em um organismo diploide. Eles são representados pela mesma letra, dos alelos, acompanhada de um expoente, que servem de diferenciação. Dessa forma, uma série alélica de um gene A pode ser escrita por A^1, A^2, A^3, A^4, até A^n, sendo *n* o número de alelos existentes para um determinado gene.

A principal implicação dos alelos múltiplos na espécie estudada é que, com os múltiplos alelos, pode ocorrer uma maior variabilidade para um mesmo gene. Por exemplo, um genótipo com uma combinação de alelos pode ser suscetível a uma doença e com uma outra combinação, para esse gene, passará a ser resistente.

Genes que controlam características quantitativas, como a produtividade de madeira da espécie perene, estudada na empresa de melhoramento, também podem ter múltiplos alelos. É importante salientar que a maioria das características de interesse econômico, com os quais os melhoristas normalmente trabalham, apresenta segregação contínua, ou seja, características que possuem herança quantitativa.

Vimos também que duas variáveis podem estar correlacionadas, tomando como exemplo a altura e o diâmetro à altura do peito (DAP) da planta estudada em sua atuação como trainee. A variação em uma dessas variáveis é acompanhada por variação simultânea na outra (maior altura, maior DAP). Pelo fato de as duas características serem controladas por um gene, como foi o caso observado pelo grupo de pesquisadores da empresa, denominamos tal propriedade como pleiotropia, que será útil quando os fenótipos associados forem favoráveis. Assim, o melhoramento de uma característica (altura) irá contribuir para o melhoramento da outra (DAP) em progênies da espécie em estudo.

Entretanto, esse fenômeno também pode ser desfavorável, pois, se um fenótipo favorável estiver associado a outros desfavoráveis, a seleção do primeiro selecionará os demais, que não são de interesse.

Avançando na prática

Estudo de epistasia em uma espécie florestal

Descrição da situação-problema

Em seu trabalho de iniciação científica, juntamente com uma empresa de melhoramento florestal, você estudou uma determinada espécie florestal que apresenta tanto genótipos com flores brancas quanto com flores vermelhas. Ao estudar o padrão de herança associado a esse fenótipo, você verificou que se tratava de um típico caso de epistasia dominante, pois foi observada a segregação e realizado o teste estatístico qui-quadrado para comprovar a hipótese.

Sabe-se que o gene "A" codifica a enzima "A", a qual catalisa a síntese do composto que dá a cor vermelha às flores. Por outro lado, o gene epistático "B" codifica a proteína "B", que atua como inibidora da reação catalisada pela enzima "A", o que resulta em flores amarelas. O alelo "a" não produz pigmentação, sendo, portanto, a flor de cor branca. Já o alelo "b" não interfere na expressão de "A" ou "a". Vale ressaltar que os genótipos heterozigotos para os dois pares de alelos são "AaBb". Ao cruzar dois genótipos heterozigóticos, qual será a segregação esperada para as flores de cor vermelha, amarela e branca? Para responder, faça o xadrez mendeliano.

Resolução da situação-problema

Primeiramente, é importante que você faça o cruzamento entre os heterozigóticos (AaBb x AaBb). Uma forma interessante de apresentar os resultados das segregações fenotípicas e genotípicas é na forma do quadro de Punnett, conforme exemplo apresentado no Quadro 1.4.

Quadro 1.4 | Segregação genotípica e fenotípica em F2 para a característica cor de flores em uma espécie florestal

Gametas F_1	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB (amarela)	AABb (amarela)	AaBB (amarela)	AaBb (amarela)
Ab	AABb (amarela)	AAbb (vermelha)	AaBb (amarela)	Aabb (vermelha)
aB	AaBB (amarela)	AaBb (amarela)	aaBB (amarela)	aaBb (amarela)
ab	AaBb (amarela)	Aabb (vermelha)	aaBb (amarela)	Aabb (branca)

Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se, aluno, no Quadro 1.4, que as segregações obtidas foram de 12 flores amarelas, 3 flores vermelhas e 1 flor branca. Dessa forma, prova-se que a interação gênica observada foi de epistasia dominante, pois a segregação foi de 12:3:1.

Faça valer a pena

1. Alelos são formas alternativas de um mesmo gene e, consequentemente, ocupam o mesmo loco em cromossomos homólogos. Os efeitos genéticos desses alelos dependem de suas relações. Alelos diferentes têm origem nas mutações, capazes de causar alterações estruturais nos genes, de tal forma que é possível ocorrer mais de dois alelos para um determinado gene.

Sabe-se que tal fato é muito importante para o melhoramento, pois permite maior variabilidade genética. Marque a alternativa que mais se relaciona com o texto acima:

a) Alelismo múltiplo.

b) Epistasia.

c) Pleiotropia.

d) Alelismo variado.

e) Alelismo igualitário.

2. As formas de transmissão das características dos pais para os descendentes são denominadas modos de herança.

Analise as afirmações a seguir.

I – A herança é ocasionada por meio das características controladas por vários genes e muito influenciada pelo ambiente.

II – A herança é ocasionada por um ou poucos genes e tem pouca ou nenhuma influência do ambiente.

III – A herança é ocasionada pelo DNA de organelas citoplasmáticas que se replicam.

O entendimento dos modos de herança da espécie estudada é de suma importância para o sucesso de um programa de melhoramento. Qual alternativa a seguir está correlacionada com as afirmações I, II e III, respectivamente?

a) Herança qualitativa, herança quantitativa e herança extranuclear, respectivamente.

b) Herança quantitativa, herança qualitativa e herança extranuclear, respectivamente.

c) Herança extranuclear, herança qualitativa e herança quantitativa, respectivamente.

d) Herança quantitativa, herança extranuclear e herança qualitativa, respectivamente.

e) Herança quantitativa, herança qualitativa e herança diferenciada, respectivamente.

3. Uma característica controlada pelos genes E, com alelos E/e, e o gene F, com alelos F/f. Como a ação do alelo E, no genótipo E_ff, e a ação do alelo F, no genótipo F_ee, são as mesmas, ou seja, produzem o mesmo fenótipo, acredita-se que os genes E/e e F/f sejam genes duplicados. Entretanto, a ação simultânea dos dois alelos dominantes, no genótipo A-B, resulta num fenótipo diferente de quando está presente apenas em uma delas.

Sabe-se que a epistasia modifica a segregação mendeliana (9:3:3:1) e é de extrema importância para o melhoramento genético. Assim, qual alternativa corresponde ao texto acima?

a) Epistasia dominante.

b) Genes duplos dominantes sem efeito cumulativo.

c) Genes duplos dominantes com efeito cumulativo.

d) Epistasia recessiva.

e) Epistasia dominante e recessiva.

Referências

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Minas Gerais: UFV, 2005.

_____; MIRANDA G. V. **Melhoramento de Plantas**. 6. ed. Minas Gerais: UVF, 2013.

CRUZ, C. D. et al. **Genética**. 2. ed. Minas Gerais: UFV, 2011. v. 2.

FERNADES, A. C. M. et al. Série Técnica Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. In: Workshop em Melhoramento Florestal, 7.,2015, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: IPEF, 2015. v. 19, n. 40, p. 1-72.

FRANCO, L.; SOUZA, E. O novo ciclo da borracha. **Globo Rural**, São Paulo, v. 25, n. 296, p. 46- 50, jun. 2010.

FRANKLIN, R. E.; GOSLING, R. G. Molecular configuration in sodium Thymonucleate. **Nature**, London, v. 171, p. 740-741, 1953.

GONÇALVES, P. Uma história de sucesso: a seringueira no Estado de São Paulo. **O Agronômico**, Campinas, v. 54, n. 1, p. 6-14, 2002.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução à genética**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. dos. **Programa de melhoramento genético de eucalipto da Embrapa Florestas**: resultados e perspectivas. Colombo: Embrapa floresta, 2011.

PINTO JÚNIOR, J. E. et al. **Melhoramento genético de espécies arbóreas na Embrapa Florestas**: uma visão histórica. Colombo: Embrapa florestas, 2013.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 5. ed. Rio de Janeiro: UFLA, 2012.

TEIXEIRA, J. E. C. et al. Cruzamentos dialélicos entre clones elite de Eucalyptus grandis e Eucalyptus urophylla. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 100, p. 497-505, dez. 2013.

_____. Análise da herança da resistência a Puccinia psidii em progênies de híbridos interespecíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 4, p. 203-210, 2009.

TVNBR. **Melhoramento genético de plantas e animais é tema do Conexão Ciência**. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=l-pYY89xUl0>. Acesso em: 23 ago. 2013.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. Molecular structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**,

London, v. 171, p. 737- 738, abr. 1953.

WILKINS, M. H. F.; STOKES, A. R.; WILSON, H. R. Molecular structure of deoxypentose nucleic acids. **Nature**, London, v. 171, p. 738-740, 1953. Disponível em: <http://www.nature.com/nature/dna50/archive.html>. Acesso em: 21 nov. 2016.

Princípios de genética quantitativa

Convite ao estudo

Prezado aluno, você se lembra das competências trabalhadas nesta disciplina? São elas: conhecer e compreender os principais fundamentos relacionados aos princípios de genética, à genética quantitativa, aos tipos de reprodução, ao melhoramento florestal e conhecer os principais métodos de melhoramento de plantas.

Seguiremos o nosso caminho da aquisição de conhecimentos em genética e melhoramento para alcançarmos as competências desejadas. Assim, iniciaremos agora a segunda unidade de ensino, que tem por nome "Princípios de genética quantitativa". Nesta unidade, iremos estudar objetivamente os delineamentos genéticos, as estatísticas do melhoramento e a aplicação da genética quantitativa no melhoramento genético de plantas. Esses temas são de extrema importância para você entender a atuação de um profissional na área de melhoramento.

Imagine que você ainda é o trainee da mesma empresa florestal e faz parte de um grupo de pesquisadores e melhoristas. A empresa atua no melhoramento e tem interesse em trabalhar ou pesquisar a cultura do eucalipto, cujo projeto de melhoramento está em andamento, sendo essa uma planta perene e típica de clima tropical. Vale ressaltar que o objetivo do programa de melhoramento é a obtenção de uma cultivar de eucalipto que seja competitiva no mercado, com elevada produtividade de madeira.

Você acompanhará os melhoristas da empresa neste projeto. Como parte de seu treinamento, você conduzirá experimentos relacionados ao programa de melhoramento. Nessa etapa, você também terá de elaborar outro relatório de suas atividades, que deve levar em conta a aplicação da estatística. Assim como o anterior, esse relatório será realizado em três

etapas: 1ª) os delineamentos estatísticos e suas aplicações no projeto de melhoramento genético florestal; 2ª) as funções da estatística no melhoramento; 3ª) aplicações da genética quantitativa no projeto e sua importância no melhoramento florestal.

Você tem ideia do que é a genética quantitativa? Já ouviu falar das heranças quantitativas e suas implicações? Quais são os tipos de heranças da maioria das características de interesse florestal? Esta unidade tem grande importância para esta disciplina, para que você possa entender casos práticos e cumprir a sua tarefa na empresa de melhoramento, pois estudaremos sobre os delineamentos genéticos, a estatística no melhoramento e a aplicação da genética quantitativa no melhoramento genético de plantas. Bons estudos!

Seção 2.1

Delineamentos genéticos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Você lembra de probabilidade e estatística? Lembra do significado de estatística? Nesta seção, trabalharemos os conhecimentos em estatística, que é de suma importância para o entendimento do melhoramento genético florestal.

Daremos início aos nossos estudos sobre delineamentos genéticos! Para caminharmos na direção e sermos capazes de analisar os principais conceitos relacionados à genética quantitativa (área da genética que estuda as características quantitativas, ou seja, controlada por muitos genes), nesta seção, abordaremos os principais aspectos sobre os delineamentos inteiramente ao acaso, blocos ao acaso, em esquema fatorial e em parcelas subdivididas.

Considerando novamente suas funções como trainee da empresa de melhoramento florestal, você passará agora a acompanhar os melhoristas da empresa em um projeto com a cultura do eucalipto e irá avaliar um experimento preliminar de cinco genótipos diferentes da espécie (enumerados de 1 a 5), com quatro repetições, com o intuito de verificar se há variabilidade para a altura das plantas que foram plantadas há dois anos.

Vale ressaltar que essas plantas foram plantadas em uma área heterogênea, porém suas repetições foram plantadas em subáreas homogêneas, cujos valores se encontram na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 | Altura de plantas coletadas do experimento preliminar

	Altura de plantas (m)				$Y_{i.}$
Genótipos	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Repetição 4	Total genétipos
Genótipo 1	10	11	9	10	40
Genótipo 2	8	6	7	9	30
Genótipo 3	11	14	13	12	50
Genótipo 4	11	12	11	12	46
Genótipo 5	9	8	7	9	33
Y_{i} (total repetições)	49	51	47	52	199 (Y..)

Fonte: elaborada pela autora.

Pois bem, levando em conta a sua nova atribuição, você deverá realizar a primeira etapa do relatório sobre a aplicação da estatística no melhoramento genético, os

delineamentos estatísticos e suas aplicações. Portanto, no relatório, você deve responder aos seguintes questionamentos: (i) Para tais dados (Tabela 2.1), qual delineamento deve ser utilizado? (ii) Há variabilidade entre os genótipos? Essa etapa do relatório deve ser feita relacionando as questões, pois é de grande valia associá-las. Essas questões serão discutidas e respondidas mais adiante.

Não pode faltar

Caro aluno, você sabe o que é uma análise de variância? A análise de variância é um procedimento muito utilizado na análise e interpretação de experimentos em melhoramento genético florestal. Essa análise foi proposta por Fisher no início do século XX, sendo que os princípios básicos da experimentação são: repetição, casualização e controle local. A análise de variância visa à decomposição da soma total dos quadrados em quantos componentes forem associadas. Tal fato permite verificar se há variabilidade genética entre os genótipos estudados.

Para realizar a análise de variância, é necessário um delineamento experimental. O delineamento experimental é um plano de distribuição dos tratamentos nas unidades experimentais, que são denominadas parcelas. Dessa forma, é possível identificar as fontes de variações em que as somas de quadrados totais foram decompostas. O delineamento experimental tem por objetivo permitir a estimativa do erro experimental, contribuir para o aumento da precisão experimental e fornecer informações para o melhoramento e testes de significância. Os delineamentos experimentais mais utilizados são delineamento inteiramente ao acaso e delineamento em blocos ao acaso.

No delineamento inteiramente ao acaso, os tratamentos são distribuídos aleatoriamente nas parcelas sem nenhum controle local. Esse delineamento é indicado para experimentos conduzidos em condições controladas, ou seja, um experimento sob condições homogêneas. Esse tipo de delineamento é muito utilizado em experimentos conduzidos em casas de vegetação e em laboratórios, que são de ambientes controlados. Observa-se no Quadro 2.1 um exemplo de disposição de experimento, com cinco tratamentos (A, B, C, D e E) e quatro repetições.

Quadro 2.1 | Exemplo da disposição de um experimento em delineamento inteiramente ao acaso

D	E	A	A	B
C	D	D	E	C
B	B	C	B	A
E	A	E	D	C

Fonte: elaborado pela autora.

Primeiramente, veremos os significados de alguns termos comumente utilizados em estatística, que são: valor observado, que é o valor observado na parcela experimental; efeito de genótipo, que é o efeito proporcionado por um genótipo em relação à média; e efeito de tratamento, que é o efeito proporcionado por um tratamento em relação à média. É importante ressaltar que o efeito pode acrescentar ou subtrair um valor em relação ao valor médio.

Para analisar os dados, esses devem ser arranjados conforme a Tabela 2.2, em que Y_{ij} refere-se ao valor da observação do i-ésimo tratamento na j-ésima repetição, sendo i=1, 2, ..., g tratamentos e j=1, 2, ..., r repetições. O total de cada tratamento é representado por Yi. $\left(Y_{i.} = \sum_{j=1}^{r} Y_{ij} \right)$ e a média de cada tratamento é representada por $\bar{Y}$i.. $\left(\overline{Y}_{i.} = \frac{\sum_{j=1}^{r} Y_{ij}}{r} \right)$. O total geral é representado por Y.. $\left(Y_{..} = \sum_{i=1}^{g} \sum_{j=1}^{r} Y_{ij} \right)$ e a média geral é representada por $\bar{Y}$.. $\left(\overline{Y}_{..} = \frac{\sum_{i=1}^{g} \sum_{j=1}^{r} Y_{ij}}{r} \right)$.

Tabela 2.2 | Observações de um experimento em delineamento inteiramente ao acaso

	Tratamentos			Totais	Médias
1	Y_{11}	Y_{12}...	Y_{1j}	$Y_{1.}$	$\bar{Y}_{1.}$
2	Y_{21}	Y_{22}...	Y_{2j}	$Y_{2.}$	$\bar{Y}_{2.}$
3	Y_{31}	Y_{32}...	Y_{3j}	$Y_{3.}$	$\bar{Y}_{3.}$
...	...	...	...	...	...
I	Y_{i1}	Y_{i2}...	Y_{ij}	$Y_{i.}$	$\bar{Y}_{i.}$

*i representa o tratamento e j representa as repetições.
Fonte: elaborada pela autora.

A análise de variância no delineamento inteiramente ao acaso é realizada de acordo com o modelo estatístico $Y_{ij} = \mu + g_i + \varepsilon_{ij}$, em que Y_{ij} é o valor observado no i-ésimo tratamento da j-ésima repetição; μ é a média geral; gi é o efeito do genótipo i, com i = 1, 2,..., g genótipos; ε_{ij} o erro experimental ou desvios, com j=1, 2,..., r repetições.

Para calcularmos a análise de variância, primeiramente calcula-se a correção $\left(C = \frac{(Y_{..})^2}{gr} \right)$, sendo Y.. a soma de todos os valores do experimento, g o número de genótipo e r o número de repetições. Posteriormente, calcula-se a soma total dos quadrados $\left(SQ_{total} = \sum_{i=1}^{g} \sum_{j=1}^{r} Y_{ij}^2 - C \right)$, sendo que os símbolos $\sum_{i=1}^{g}, \sum_{j=1}^{r}$ indicam que são

somatórios em relação aos termos de ordem i e j, respectivamente. Em seguida, será decomposta em causas controláveis e não controláveis a soma de quadrado de genótipos ou tratamentos $\left(SQ_{genótipo} = \frac{\sum_{i=1}^{g} Y_{i.}^2}{r} - C \right)$, sendo $Y_{i.}^2$ total do genótipo i e r o número de repetições e a soma de quadrado do erro experimental ($S_{Qerro} = S_{Qtotal} - S_{Qtratamento}$), respectivamente. Após obtermos a soma de quadrado, temos de encontrar o quadrado médio, que é a soma de cada quadrado dividido pelos graus de liberdade. Para verificar se há significância, é realizado o teste F, que é obtido pelo quociente entre Q_{Mgen}. e Q_{Merro}. Esse teste é usado para julgar se há diferenças entre as médias de genótipos ou tratamentos. No Quadro 2.2, será apresentado um modelo de análise de variância para delineamento inteiramente ao acaso, com as fontes de variação, graus de liberdade, soma de quadrados, quadrados médios e teste F.

Visando averiguar a precisão experimental, calculamos o coeficiente de variação $\left(CV(\%) = 100 \frac{\sqrt{QM_{erro}}}{\bar{Y}_{..}} \right)$, sendo $\bar{Y}_{..}$ a média geral do experimento.

Quadro 2.2 | Modelo de análise de variância de um experimento em delineamento inteiramente ao acaso

FV	GL	SQ	QM	F
Genótipos	I-1	SQgen.	QMgen.	QMgen./QMerro
Erro	I(J-1)	SQerro	QMerro	
Total	IJ-1	SQtotal		
Média				
CV (%)				

FV – fonte de variação; GL – graus de liberdade; SQ – soma de quadrados; QM – quadrados médios; média – média geral; CV (%) – coeficiente de variação.
Fonte: elaborado pela autora.

Após realizada a análise de variância, deve-se verificar se essa foi significativa, ou seja, se há diferenças entre os tratamentos utilizados. Para isso, é preciso comparar o valor obtido na análise de variância com um valor tabelado a uma dada probabilidade. Esse valor é obtido por meio da tabela de valores do teste F, levando em consideração os graus de liberdades do genótipo e os graus de liberdade do resíduo. Os graus de liberdade do genótipo estão na linha horizontal (v1) e os do resíduo (v2) estão na vertical. Se o valor de F calculado for maior ou igual ao F tabelado, o valor de F calculado será significativo (F calculado $\geq$ F tabelado); caso contrário, será não significativo. Por exemplo, se o valor F tabelado for 12,45, os graus de liberdade do genótipo for 8 e os do resíduo for 15, teremos v1 = 8 e v2 = 12, portanto, o F tabelado a cinco por cento de probabilidade é = 2,849 (Figura 2.1). Comparando os valores tabelados e calculados, observamos que F calculado (12,45) > F tabelado (2,849), portanto, o valor de F é significativo, ou seja, há diferenças entre os genótipos.

Figura 2.1 | Valores de teste F a 5% de probabilidade

GL	V1																		
V2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	20	40	60	120	240
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.0	243.9	244.7	245.4	245.9	248.0	251.1	252.2	253.3	253.8
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.405	19.412	19.419	19.424	19.429	19.446	19.471	19.479	19.487	19.492
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785	8.763	8.745	8.729	8.715	8.703	8.660	8.594	8.572	8.549	8.538
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.936	5.912	5.891	5.873	5.858	5.803	5.717	5.688	5.658	5.643
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.704	4.678	4.655	4.636	4.619	4.558	4.464	4.431	4.398	4.382
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.027	4.000	3.976	3.956	3.938	3.874	3.774	3.740	3.705	3.687
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.603	3.575	3.550	3.529	3.511	3.445	3.340	3.304	3.267	3.249
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.313	3.284	3.259	3.237	3.218	3.150	3.043	3.005	2.967	2.947
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.102	3.073	3.048	3.025	3.006	2.936	2.826	2.787	2.748	2.727
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.943	2.913	2.887	2.865	2.845	2.774	2.661	2.621	2.580	2.559
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.818	2.788	2.761	2.739	2.719	2.646	2.531	2.490	2.448	2.426
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.717	2.687	2.660	2.637	2.617	2.544	2.426	2.384	2.341	2.319
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.635	2.604	2.577	2.554	2.533	2.459	2.339	2.297	2.252	2.230
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.565	2.534	2.507	2.484	2.463	2.388	2.266	2.223	2.178	2.155
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.507	2.475	2.448	2.424	2.403	2.328	2.204	2.160	2.114	2.090
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.456	2.425	2.397	2.373	2.352	2.276	2.151	2.106	2.059	2.035
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.413	2.381	2.353	2.329	2.308	2.230	2.104	2.058	2.011	1.986
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.374	2.342	2.314	2.290	2.269	2.191	2.063	2.017	1.968	1.943
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.340	2.308	2.280	2.256	2.234	2.155	2.026	1.980	1.930	1.905
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.310	2.278	2.250	2.225	2.203	2.124	1.994	1.946	1.896	1.870
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685	2.573	2.488	2.420	2.366	2.321	2.283	2.250	2.222	2.197	2.176	2.096	1.965	1.916	1.866	1.839
22	4.301	3.443	3.049	2.817	2.661	2.549	2.464	2.397	2.342	2.297	2.259	2.226	2.198	2.173	2.151	2.071	1.938	1.889	1.838	1.811
23	4.279	3.422	3.028	2.796	2.640	2.528	2.442	2.375	2.320	2.275	2.236	2.204	2.175	2.150	2.128	2.048	1.914	1.865	1.813	1.785
24	4.260	3.403	3.009	2.776	2.621	2.508	2.423	2.355	2.300	2.255	2.216	2.183	2.155	2.130	2.108	2.027	1.892	1.842	1.790	1.762
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236	2.198	2.165	2.136	2.111	2.089	2.007	1.872	1.822	1.768	1.740
26	4.225	3.369	2.975	2.743	2.587	2.474	2.388	2.321	2.265	2.220	2.181	2.148	2.119	2.094	2.072	1.990	1.853	1.803	1.749	1.720
27	4.210	3.354	2.960	2.728	2.572	2.459	2.373	2.305	2.250	2.204	2.166	2.132	2.103	2.078	2.056	1.974	1.836	1.785	1.731	1.702
28	4.196	3.340	2.947	2.714	2.558	2.445	2.359	2.291	2.236	2.190	2.151	2.118	2.089	2.064	2.041	1.959	1.820	1.769	1.714	1.685
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545	2.432	2.346	2.278	2.223	2.177	2.138	2.104	2.075	2.050	2.027	1.945	1.806	1.754	1.698	1.669
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	2.126	2.092	2.063	2.037	2.015	1.932	1.792	1.740	1.683	1.654
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077	2.038	2.003	1.974	1.948	1.924	1.839	1.693	1.637	1.577	1.544
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026	1.986	1.952	1.921	1.895	1.871	1.784	1.634	1.576	1.511	1.476
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368	2.254	2.167	2.097	2.040	1.993	1.952	1.917	1.887	1.860	1.836	1.748	1.594	1.534	1.467	1.430
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329	2.214	2.126	2.056	1.999	1.951	1.910	1.875	1.845	1.817	1.793	1.703	1.545	1.482	1.411	1.370
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927	1.886	1.850	1.819	1.792	1.768	1.676	1.515	1.450	1.376	1.333
120	3.920	3.072	2.680	2.447	2.290	2.175	2.087	2.016	1.959	1.910	1.869	1.834	1.803	1.775	1.750	1.659	1.495	1.429	1.352	1.307
240	3.881	3.033	2.642	2.409	2.252	2.136	2.048	1.977	1.919	1.870	1.829	1.793	1.761	1.733	1.708	1.614	1.445	1.375	1.290	1.237

Fonte: adaptada de Carnevali (2014, slide 1).

Pesquise mais

A estatística é uma ciência muito estudada em várias áreas, principalmente na genética e melhoramento genético florestal. Hoje, não se imagina fazer melhoramento de plantas ou animais sem utilizar as ferramentas de estatística. O livro *Breve História da Estatística* relata a história dessa ciência e sua evolução com o tempo.

MEMÓRIA, José Maria Pompeu. **Breve história da estatística**. Brasília: Embrapa, 2004. 111 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/110361/breve-historia-da-estatistica>. Acesso em: 18 set. 2016.

Blocos: o delineamento em blocos ao acaso é o delineamento mais utilizado nos programas de melhoramento genético. Nesse delineamento, realiza-se o controle ambiental com restrições na aleatorização dos genótipos. Tal fato ocorre devido à grande dificuldade de encontrar áreas homogêneas, especialmente no campo. Cada bloco deve ser o mais uniforme possível. Dessa forma, o delineamento torna-se mais eficiente, dividindo uma área heterogênea em blocos homogêneos. É importante salientar que esse delineamento sofre menos influência do ambiente devido ao controle ambiental. Observa-se no Quadro 2.3 um esquema de disposição de um experimento de blocos ao acaso no campo.

Quadro 2.3 | Exemplo da disposição de um experimento em delineamento em blocos ao acaso

Bloco 1	A	C	E	B	D
Bloco 2	B	A	D	E	C
Bloco 3	D	C	A	B	E
Bloco 4	E	D	B	C	A

Fonte: elaborado pela autora.

A análise de variância no delineamento em blocos ao acaso é realizada de acordo com o modelo estatístico $Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + \varepsilon_{ij}$, em que Yij é o observado no i-ésimo tratamento da j-ésima repetição; μ é a média geral; gi é o efeito do genótipo i, com i = 1, 2, ..., g genótipos; bj é o efeito de bloco j, com j= 1, 2, ..., r repetições; e ε_{ij} o erro experimental ou desvios, com j=1, 2, ..., r repetições.

Para calcularmos a análise de variância no delineamento em blocos ao acaso, primeiramente calculamos a correção, a soma total de quadrados e a soma de quadrado de tratamento, da mesma forma que foi calculado no delineamento inteiramente ao acaso. Nessa análise, calcula-se também a soma de quadrado de blocos $\left(SQ_{bloco} = \frac{\sum_{j=1}^{r} Y_j^2}{g} - C \right)$, sendo Y_j^2 total de repetições j e g o número de genótipos e a soma de quadrado do erro experimental ($SQ_{erro} = SQ_{total} - SQ_{tratamento} - SQ_{bloco}$). Posteriormente, encontraremos os quadrados médios e o teste F, da mesma forma que no delineamento inteiramente ao acaso. No Quadro 2.4, apresentamos um modelo de análise de variância para delineamento de blocos ao acaso, com as fontes de variação, graus de liberdade, soma de quadrados, quadrados médios e teste F.

Quadro 2.4 | Modelo de análise de variância de um experimento em delineamento em blocos ao acaso

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	J-1	SQbloco	QMbloco	
Genótipos	I-1	SQgen.	QMgen.	QMgen./QMerro
Erro	(I-1)(J-1)	SQerro	QMerro	
Total	IJ-1	SQtotal		
Média				
CV (%)				

FV – fonte de variação; GL – graus de liberdade; SQ – soma de quadrados; QM – quadrados médios; média – média geral; CV (%) – coeficiente de variação.
Fonte: elaborado pela autora.

Assimile

É importante lembrar quando utilizar o delineamento inteiramente ao acaso e o delineamento em blocos ao acaso. Deve-se utilizar o delineamento inteiramente ao acaso quando se tem uma área homogênea, como em um laboratório. Quando a área é heterogênea, deve-se utilizar o delineamento em blocos ao acaso, pois esse divide a área em blocos homogêneos.

Fatoriais: utilizamos análise de variância em esquema fatorial quando pretendemos analisar mais de uma variável em um mesmo experimento, podendo esse ser em blocos ao acaso ou inteiramente ao acaso. Um exemplo desse tipo de análise é quando avaliamos diferentes genótipos e diferentes fungicidas em um mesmo experimento.

A análise de variância no delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial é realizada de acordo com o modelo estatístico $Y_{ijk} = \mu + g_i + a_k + ga_{ik} + b_j + \varepsilon_{ijk}$, em que Y_{ijk} é o valor observado no i-ésimo fator g e k-ésimo do fator k da j-ésima repetição; μ é a média geral; gi é o efeito do fator genótipo G, com i = 1, 2, ..., g genótipos; a_k é o efeito do fator A, com k= 1, 2, ..., a fatores; ga_{ik} é o efeito da interação dos fatores GxA; bj é o efeito de bloco j, com j= 1, 2, ..., r repetições; ε_{ijk} o erro experimental ou desvios.

Caso o experimento seja em delineamento inteiramente ao acaso, utiliza-se o mesmo modelo, porém sem o b_j, que se refere ao bloco.

Para realizar a análise de variância nesse modelo, calcula-se a soma total dos quadrados, de tratamentos e de blocos, igual ao delineamento em blocos ao acaso, considerando que tratamento é a soma dos fatores genótipo e fator A. Nessa análise, calculam-se a soma de quadrados do fator genótipo $\left(SQ_{fatorG} = \frac{\sum_{i=1}^{g} Y_{i..}^2}{jk} - C \right)$, sendo Y_j^2 o total do fator genótipo, j as repetições e k o fator A; a soma de quadrado do fator A $\left(SQ_{fatorA} = \frac{\sum_{k=1}^{a} Y_{.k.}^2}{ji} - C \right)$, sendo Y.k. o total do fator A, j as repetições e i os genótipos; a soma de quadrado da interação GA (SQint.GA = $SQ_{tratamento}$ – SQ_{fatoA} – SQ_{fatorG}) e a soma de quadrado do erro experimental (SQ_{erro} = SQ_{total} - $SQ_{tratamento}$ – SQ_{bolco}). Posteriormente encontraremos os quadrados médios e o teste F, conforme apresentado no Quadro 2.5.

Exemplificando

Caro aluno, se analisarmos a altura de uma população de plantas, verificaremos várias alturas. Mesmo essas alturas sendo diferentes, não podemos afirmar que são diferentes de fato, pois o fenótipo é o resultado da genética + ambiente. Entretanto, com a estatística, conseguimos isolar

o efeito do ambiente, o erro e o efeito dos genótipos. Dessa forma, podemos inferir que essas diferenças são significativas ou não. Caso seja significativa, é devido ao efeito do genótipo, e, se não, é somente efeito do ambiente.

Quadro | Modelo de análise de variância de um experimento em delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial

FV	GL	SQ	QM	F
Fator Genótipo	I-1	SQgen.	QMgen.	QMgen./QMerro
Fator A	K-1	SQfatorA	QMfatorA	QMfatorA/QMerro
Interação GxA	(G-1)(A-1)	SQint.GxA	QMint.GxA	QMint.GxA/QMerro
Tratamentos	(IK-1)	SQtrat.	QMtrat.	QMtrat/QMerro
Blocos	J-1	SQbloco	QMbloco	
Erro	(IK-1)(J-1)	SQerro	QMerro	
Total	IKJ-1	SQtotal		
Média				
CV (%)				

*FV – fonte de variação; GL – graus de liberdade; SQ – soma de quadrados QM – quadrados médios; média – média geral; CV (%) – coeficiente de variação.
Fonte: elaborado pela autora.

Parcelas subdivididas: os experimentos em esquema de parcelas subdivididas (*Splint-Plot*), assim como no fatorial, avaliam várias combinações de dois ou mais fatores. A diferença entre os dois esquemas está na disposição do experimento no campo. No esquema de parcelas subdivididas, cada parcela é subdividida em subáreas, constituindo as parcelas subdivididas. Quando há dificuldade em aleatorizar todos os fatores, utiliza-se o esquema de parcelas subdivididas, como na avaliação de genótipos e espaçamento. Nesse caso, utiliza-se espaçamento como parcela e genótipos como subparcelas. Esse esquema pode ser utilizado em qualquer tipo de delineamento, entretanto é mais utilizado em blocos ao acaso.

A análise de variância no delineamento em blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas é realizada de acordo com o modelo estatístico $Y_{ijk} = \mu + B_j + P_i + \varepsilon_{ij} + S_k + PS_{ik} + \delta_{ijk}$, em que Y_{ijk} é o valor observado no i-ésimo nível da parcela p e k-ésimo nível da subparcela k da j-ésima repetição; μ é a média geral; B_j é o efeito de bloco j, com j= 1, 2, ..., r repetições; Pi é o efeito da parcela p, com i = 1, 2, ..., p parcelas; ε_{ij} é o erro experimental aleatório a; Sk é o efeito da subparcela, com k= 1, 2, ..., s subparcelas; PS_{ik} é o efeito da interação da parcela com a subparcela; δ_{ijk} é o erro experimental aleatório b.

Para calcular a soma de quadrados (Quadro 2.6), procede-se da seguinte forma: do bloco $\left(SQ_{bloco} = \frac{\sum_{j=1}^{r} Y_{.j.}^2}{ik} - C \right)$, tratamento A $\left(SQ_{trat.A} = \frac{\sum_{i=1}^{p} Y_{i..}^2}{jk} - C \right)$, da parcela $\left(SQ_{parcela} = \frac{\sum_{i=1}^{p}\sum_{j=1}^{r} Y_{ij}^2}{k} - C \right)$, do

erro a ($SQ_{parcelas} - SQ_{trat.A} - SQ_{blocos}$), subparcela $\left(SQ_{subparcela} = \frac{\sum_{k=1}^{s} Y_{..k}^2}{ij} - C \right)$, interação parcela x subparcela $\left(SQ_{PxS} = \frac{\sum_{i=1}^{p} \sum_{k=1}^{s} Y_{i.k}^2}{j} - C - SQ_{parcela} - SQ_{subparcela} \right)$, total $\left(SQ_{total} = \sum_{i=1}^{g} \sum_{k=1}^{s} \sum_{j=1}^{r} Y_{ijk}^2 - C \right)$ e erro b ($SQ_{erro} = SQ_{total} - SQ_{parcela} - SQ_{subparcela} - SQ_{interação}$ PxS).

Quadro 2.6 | Modelo de análise de variância de um experimento em delineamento em blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	J-1	SQbloco	QMbloco	
Tratamento A	I-1	SQtrat.A	QMtrat.A	QMtrat.A/QMerro(a)
Erro (a)	(J-1)(I-1)	SQerro(a)	QMerro(a)	
Parcelas	(IJ-1)	SQparc.	QMparc.	QMparc./QMerro(a)
Subparcela	K-1	SQsubp.	QMsubp.	QMsubp./QMerro(b)
Interação PxS	(I-1)(K-1)	SQint.PxS	QMint.PxS	QMint.PxS/QMerro(b)
Erro (b)	I(K-1)(J-1)	SQerro(b)	QMerro(b)	
Total	IKJ-1	SQtotal		
Média				
CV (%)				

FV – fonte de variação; GL – graus de liberdade; SQ – soma de quadrados QM – quadrados médios; média – média geral; CV (%) – coeficiente de variação.
Fonte: elaborado pela autora.

Reflita

Prezado aluno, o esquema de parcelas subdivididas é semelhante ao fatorial e este é mais preciso, pois tem um erro a menos. Quando e por que devo utilizar o esquema de parcelas subdivididas?

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada?

Nela, você assumiu o papel de trainee de uma empresa de melhoramento florestal que está acompanhando melhoristas da empresa em um projeto com a cultura do eucalipto. Você irá avaliar um experimento preliminar de cinco genótipos diferentes

(enumerados de 1 a 5), com quatro repetições, com o intuito de verificar se há variabilidade para altura das plantas que foram plantadas há dois anos. Vale ressaltar que essas plantas foram plantadas em uma área heterogênea, porém suas repetições foram plantadas em blocos homogêneos, cujos valores se encontram na Tabela 2.1, conforme apresentamos inicialmente na seção. Vamos relembrar:

Tabela 2.1 | Altura de plantas coletadas do experimento preliminar

	Altura de plantas (m)				$Y_{i.}$
Genótipos	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Repetição 4	Total genétipos
Genótipo 1	10	11	9	10	40
Genótipo 2	8	6	7	9	30
Genótipo 3	11	14	13	12	50
Genótipo 4	11	12	11	12	46
Genótipo 5	9	8	7	9	33
Y_j (total repetições)	49	51	47	52	199 (Y..)

Fonte: elaborada pela autora.

Este, então, é o momento de construção da primeira etapa de seu relatório sobre a aplicação da estatística no melhoramento genético do eucalipto. Você deve responder aos seguintes questionamentos para concretizar esta etapa do seu relatório: para tais dados, qual delineamento deve ser utilizado? (ii) Há variabilidade entre os genótipos?

Respondendo ao primeiro questionamento, mencione em seu relatório que, nesse caso, deve-se utilizar o delineamento em blocos ao acaso, pois, como mencionado, o experimento com eucalipto foi instalado em uma área heterogênea e seus blocos (repetições) em uma área homogênea. Para utilizar o delineamento inteiramente ao acaso, toda a área deve ser homogênea, o que não é o nosso caso. Discorra sobre esse delineamento, informando as suas particularidades.

Com relação ao segundo questionamento: (ii) Há variabilidade entre os genótipos? Para responder a essa questão, teremos de fazer a análise de variância.

Primeiramente, calculamos a correção $\left(C = \frac{(Y_{..})^2}{gr} = \frac{199^2}{5x4} = 1.980,05 \right)$, soma total dos quadrados $\left(SQ_{total} = \sum_{i=1}^{g}\sum_{j=1}^{r} Y_{ij}^2 - C = 10^2 + 11^2 + ... + 7^2 + 9^2 - 1.980,05 = 86,95 \right)$, de tratamento $\left(SQ_{genótipo} = \frac{\sum_{i=1}^{g} Y_{i.}^2}{r} - C = \frac{40^2 + 30^2 + 50^2 + 46^2 + 33^2}{4} - 1.980,05 = 71,20 \right)$, de bloco $\left(SQ_{bloco} = \frac{\sum_{j=1}^{r} Y_{.j}^2}{g} - C = \frac{49^2 + 51^2 + 47^2 + 52^2}{5} - 1.980,05 = 2,95 \right)$, do erro experimental ($SQ_{erro}$ =

SQ_{total} - $SQ_{tratamento}$ – SQ_{bolco} = 86,95 – 71,20 – 2,95 = 12,80) e o coeficiente de variação $\left(CV(\%) = 100\frac{\sqrt{QM_{erro}}}{\bar{Y}_{..}} = 100\frac{\sqrt{12,80}}{9,95} = 35.95 \right)$. Assim, podemos fazer a tabela de análise de variância (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 | Modelo de análise de variância de um experimento em delineamento em blocos ao acaso

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	3	2,95	0,98	
Genótipos	4	71,20	17,80	16,63*
Erro	12	12,80	1,07	
Total	19	86,95		
Média		9,95		
CV (%)		35,95		

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.
Fonte: elaborada pela autora.

Posteriormente, deve-se verificar se o valor de F é ou não significativo. O valor de F tabelado a 5% de probabilidade é 3,26 (Figura 2.1), sendo menor que o calculado (16,63), em que $QM_{Genótipo}/QM_{Erro}$ = F, ou seja: 17,8/1,07= 16,63. Portanto, é significativo. Assim, pode-se afirmar que há variabilidade entre os genótipos.

Avançando na prática

Diferenças em esquema fatorial e em parcelas subdivididas

Descrição da situação-problema

Prezado aluno, para realizar o seu trabalho de conclusão de curso, você deverá instalar um experimento em campo que avaliará o desenvolvimento inicial das plantas de cinco genótipos diferentes de Pinus em quatro doses diferentes de um determinado adubo. Esse experimento será realizado em parceria com uma empresa de melhoramento florestal e será aplicado o delineamento em blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas.

Seus colegas que o estão auxiliando perguntaram a você: quais foram os motivos que o levaram a escolher o delineamento em blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas e não em esquema fatorial? Como você responderia a esse questionamento?

Resolução da situação-problema

O fato está no experimento ser em campo, ou seja, a área é heterogênea, portanto, o delineamento mais indicado é o em blocos ao acaso. Como vimos, esse delineamento possibilita um melhor controle ambiental, pois divide o experimento em blocos homogêneos. Assim, o experimento terá menor influência do ambiente.

O experimento com adubações precisa de um rigor maior entre uma parcela e outra, pois há um grande risco das parcelas se influenciarem, devido à proximidade. Em experimentos com esquema fatorial, há um sorteio de todos os fatores dentro do bloco, no caso de delineamento em blocos ao acaso. Dessa forma, aumentam-se os riscos de uma parcela interferir em outra.

Para minimizar esse problema, você pode informar aos seus colegas que por isso foi recomendado o uso do delineamento em blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas. Nesse caso, cada dose será uma parcela e os genótipos serão as subparcelas. Em virtude de uma dose poder influenciar na parcela com outra dose do adubo, as parcelas poderão ter uma bordadura de um metro para que a dose de uma parcela não interfira na outra. A parte da parcela que será utilizada é denominada parcela útil, sendo que a parcela total é a parcela útil juntamente com a bordadura. Vale ressaltar que as parcelas serão aleatórias dentro do bloco e as subparcelas serão aleatórias dentro de cada parcela.

Faça valer a pena

1. A análise de variância é um procedimento muito utilizado na análise e interpretação de experimentos em melhoramento genético florestal. Essa análise foi proposta por Fischer no início do século XX. A análise de variância visa à decomposição da soma total dos quadrados em quantos componentes forem associadas.

De acordo com o texto, a estatística é uma ferramenta muito importante para o sucesso do melhoramento genético. Sendo assim, quais são os princípios básicos da experimentação?

a) Repetição, controle local e casualização.

b) Repetição, controle local e inteiramente ao acaso.

c) Controle local e casualização.

d) Repetição e casualização.

e) Repetição, casualização e blocos ao acaso.

2. Os conhecimentos em estatística são de extrema importância para o melhoramento genético florestal.

Assim, analise as informações a seguir:

a) O coeficiente de variação mede a precisão experimental.

b) O delineamento em blocos é indicado para situações em que o experimento ocorre em local homogêneo.

c) O quadrado médio é a razão entre soma de quadrado e graus de liberdade.

Levando em conta as informações contidas nas afirmações apresentadas, é correto afirmar que:

a) as afirmações "a" e "b" estão corretas e a afirmação "c" está errada;

b) as afirmações "b" e "c" estão corretas e a afirmação "a" está errada;

c) as afirmações "a" e "c" estão corretas e a afirmação "b" está errada;

d) as afirmações "a", "b" e "c" estão corretas;

e) as afirmações "a", "b" e "c" estão erradas.

3. Você está fazendo iniciação científica com a cultura do eucalipto. Em seu trabalho, você vai avaliar a resistência de seis genótipos diferentes a quatro doenças importantes para a cultura. Esse experimento será realizado em uma casa de vegetação.

Sabe-se que, para cada situação, há uma estratégia mais adequada. De acordo com texto, qual estratégia é a mais adequada para analisar esse experimento?

a) Delineamento inteiramente ao acaso.

b) Delineamento em blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas.

c) Delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial.

d) Delineamento inteiramente ao acaso em esquema de parcelas subdivididas.

e) Delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial.

Seção 2.2

Estatísticas do melhoramento

Diálogo aberto

Olá, aluno! Estamos na segunda parte da unidade "Princípios de genética quantitativa". Continuando o nosso estudo, trataremos da estatística do melhoramento, que é de grande relevância para predizermos se uma população pode ou não ser melhorada. Nesta seção, seguiremos a nossa caminhada ao analisar os principais conceitos relacionados à genética quantitativa, tendo a estatística um papel importante neste processo. Abordaremos também os principais aspectos sobre os tratamentos e parcelas, repetições e variáveis, parâmetros genéticos, e finalizaremos com ganho de seleção e herdabilidade.

Considerando que você ainda está acompanhando os melhoristas da empresa de melhoramento florestal, e que, na etapa anterior do projeto, você realizou a análise estatística de um experimento preliminar de cinco genótipos de eucalipto com quatro repetições, verificamos que há variabilidade genética para altura das plantas cultivadas há dois anos, permitindo, assim, seleção. Observe novamente a análise de variância que está representada na Tabela 2.4, cujos dados foram calculados na seção anterior.

Tabela 2.4 | Análise de variância para altura de plantas (metros) de eucaliptos com dois anos

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	3	2,95	0,98	
Genótipos	4	71,20	17,80	16,63*
Erro	12	12,80	1,07	
Total	19	86,95		
Média		9,95		
CV (%)		35,95		

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Fonte: O autor. FV – Fonte de variação; GL – Graus de liberdade; SQ – Soma de quadrado; QM – Quadrado médio; F – Valor F de Fischer.
Fonte: elaborada pela autora.

Agora, você deverá realizar uma análise sobre a aplicação da estatística do melhoramento genético. Portanto, no relatório (etapa II), você deve responder aos seguintes questionamentos: (i) Quais as principais funções da estatística no melhoramento? (ii) Qual o ganho de seleção percentual dessa população? Considere

que foram selecionados 20% dos genótipos avaliados, e que a média desses é denominada média selecionada, que foi de 12,24 metros. Faça o relatório associando essas questões, que serão discutidas e respondidas mais adiante.

Não pode faltar

Prezado aluno, você se lembra da disciplina Probabilidade e Estatística? A estatística é a ciência que permite coletar, organizar, analisar e interpretar dados para as tomadas de decisão. Você sabe o que é um experimento? O experimento é um processo planejado de investigação científica, que segue determinados princípios (controle local, casualização e repetição), destinado à verificação de novos fatos, confirmação ou rejeição dos resultados de experimentos anteriores. Dessa forma, uma decisão pode ser tomada, como a recomendação de um novo genótipo.

O tratamento pode ser um método, elemento ou material cujo efeito deve ser medido e comparado com outros no experimento. Pode-se dizer que o tratamento é uma condição imposta ou objeto que se deseja medir ou avaliar em um experimento. São exemplos de tratamentos: diferentes genótipos de uma determinada espécie florestal; diferentes tipos de adubações; diferentes inseticidas aplicados no controle de uma determinada praga; entre outros. Vale ressaltar que é possível trabalhar com dois ou mais tipos de tratamentos diferentes, como genótipos e diferentes doses de adubos.

É importante salientar que, normalmente, utiliza-se um dos tratamentos como testemunha, que também pode ser chamado de tratamento controle, sendo esse um método, elemento ou material comumente utilizado como referência. O efeito da testemunha será comparado com as respostas dos demais tratamentos, com a finalidade de comprovação ou confirmação. Exemplo: comparar o genótipo mais utilizado com novos genótipos que foram melhorados; ausência de adubação; entre outros.

A parcela (unidade experimental) pode ser um indivíduo ou uma área experimental que vai receber o tratamento e fornecer os dados que deverão refletir o seu efeito. É a unidade de referência na qual serão avaliadas ou medidas todas as variáveis (características). Em experimentos, deve-se ter um número adequado de plantas que possam representar um tratamento. As parcelas podem ser constituídas de uma planta ou grupo de plantas, em vasos ou em campos e podem ser formadas também em uma placa de Petri, entre outras possibilidades. Entretanto, é importante enfatizar que a decisão de utilizar uma planta ou um grupo de plantas como parcela depende do fenômeno que está sendo estudado, da maneira como o experimento será conduzido e dos recursos disponíveis. De modo geral, a escolha da unidade experimental deve ser feita de forma a minimizar o erro experimental.

Repetição e variáveis

É importante salientar que a estatística é a parte da matemática aplicada que se preocupa com obter conclusões a partir de dados experimentais. Ou seja, permite obter conclusões válidas para toda uma população a partir de um experimento. Os princípios de experimentação são controle local, casualização e repetição.

O controle local consiste em distribuir os tratamentos no campo (área experimental) sempre em áreas mais homogêneas possíveis em relação às condições de solo, irrigação, insolação, entre outros. As áreas formadas são denominadas blocos. Vale ressaltar que, se o experimento for realizado em uma área homogênea, não haverá a necessidade de dividi-los em blocos.

As parcelas dentro de cada bloco devem ser o mais uniforme possível, de forma que a variação dentro deles seja a menor possível, enquanto a variação entre blocos pode ser grande. A finalidade do controle local é dividir um ambiente heterogêneo em subambientes homogêneos. Dessa forma, o delineamento experimental será mais eficiente devido à redução do erro experimental.

Em uma análise de variância, exige-se que os erros sejam independentes. Para isso, há necessidade de casualização, pois pode haver correlação entre as parcelas adjacentes e, dessa forma, os erros tendem a ser correlacionados. Com a casualização, elimina-se esse problema.

A repetição é o número de vezes que um tratamento ocorre no experimento, o que permite estimar o erro experimental, o qual é indispensável na construção de testes de hipóteses. Vale enfatizar que, quanto maior for o número de repetições, menor será o erro padrão da média. O uso de um número apropriado de repetições possibilita uma boa estimativa do erro experimental e, consequentemente, contribui para aumentar a precisão dessas e o poder dos testes estatísticos.

Em um programa de melhoramento florestal, avalia-se o potencial genético de uma determinada população de plantas. Para a realização do melhoramento, a população deve possuir variabilidade genética. Para avaliar essa variabilidade, faz-se uma análise de variância com os genótipos de uma determinada população. Se o valor de F for significativo para genótipos, conclui-se que há variabilidade genética e é possível fazer seleção nessa população. Do exposto, os melhoristas devem ter por objetivo diminuir ao máximo o erro para tornar mais fidedignas as análises de variâncias, aumentando a chance de encontrar variabilidade genética.

Variáveis são características que podem ser observadas ou medidas em cada elemento da população ou em um conjunto de resultados possíveis de um fenômeno. As variáveis podem ser classificadas como qualitativas ou quantitativas.

As variáveis são qualitativas quando a expressão é uma qualidade ou atributo que não pode ser medido, ou seja, expresso por palavras. Exemplos desse tipo de variável são: cor da flor, cor da folha e tipo de raiz.

As variáveis são quantitativas quando os valores são expressos por números, como produtividade de madeira, altura de planta, número de semente, entre outras. As variáveis quantitativas são divididas em variáveis contínuas e variáveis discretas.

As variáveis contínuas assumem inúmeros valores numéricos entre dois limites, podendo assumir valores decimais. Por exemplo, a altura de plantas, o diâmetro na altura do peito e a produtividade de madeira.

As variáveis discretas assumem valores de um conjunto enumerável, podendo apresentar, apenas, valores inteiros, como o número de flores por plantas, número de sementes por fruto e número de folhas por galho.

Reflita

Sabe-se que os princípios da experimentação são repetição, casualização e controle local. Outro ponto importante é que há a possibilidade de estimar os componentes de variância, que são variância fenotípica, variância genotípica e variância ambiental. Assim, em termos práticos, qual seria a importância da estatística para o melhoramento genético florestal? Elenque o que é mais importante.

Parâmetros genéticos

Os parâmetros genéticos são as quantificações numéricas da parte genotípica, que especificam a população no que diz respeito a alguma característica. A obtenção de estimativa de parâmetros genéticos tem muita importância em programas de melhoramento genético florestal. Dessa forma, possibilitam as tomadas de decisão relacionadas com a escolha do método mais apropriado e dos caracteres que devem ser selecionados em etapas iniciais e avançadas de um programa de melhoramento. Os parâmetros genéticos são obtidos por meio dos componentes de variância, sendo estes os principais: correlação genética e fenotípica, heterose, variância fenotípica, variância genética, variância ambiental, herdabilidade e ganho de seleção.

Os componentes de variância são variâncias associadas aos efeitos aleatórios de um modelo matemático, como a variância fenotípica, genotípica e ambiental. Os efeitos aleatórios são representativos de tratamentos de uma amostra oriunda de uma determinada população. É preciso salientar que os componentes da variância representam as variâncias associadas ao efeito do modelo estatístico. Esses componentes são importantes para a estatística experimental, visando ao teste F, e para o melhoramento genético para obter o coeficiente de herdabilidade, ganho de seleção, entre outros. Os componentes da variância podem ser estimados por meio

da obtenção das esperanças matemáticas dos quadrados médios de uma análise de variância.

A esperança matemática dos quadrados médios pode ser obtida pelo método prático de Hicks (1973), que possibilita obter os componentes da variância de modo fácil e rápido, desde que o modelo seja balanceado. Isso quer dizer que todos os efeitos ou fontes de variação serão submetidos ao mesmo número de repetições. Observa-se na Tabela 2.5 as esperanças matemáticas dos quadrados médios de um experimento em delineamento em blocos ao acaso, cujo modelo estatístico é $Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + \varepsilon_{ij}$, sendo μ a média geral, g_i o efeito do genótipo, b_j o efeito de blocos e ε_{ij} o efeito do erro experimental.

Tabela 2.5 | Esquema de esperanças matemáticas dos quadrados médios [E(QM)] para análise de variância em delineamento em blocos ao acaso com modelo aleatório

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	J-1	QMbloco	$\sigma^2 + g\sigma_b^2$	
Genótipos	I-1	QMgen.	$\sigma^2 + r\sigma_g^2$	QMgen./QMerro
Erro	(I-1)(J-1)	QMerro	σ^2	
Total	IJ-1			
Média				
CV (%)				

FV – fonte de variação; GL – graus de liberdade; SQ – soma de quadrados QM – quadrados médios; média – média geral; CV (%) – coeficiente de variação; σ^2 - variância ambiental; σ_b^2 - variância do bloco; σ_g^2 - variância genética.
Fonte: elaborada pela autora.

Sabe-se que o fenótipo é igual ao genótipo mais ambiente (F= G+A). Assim, podemos inferir que a variância fenotípica é igual à variância genética mais a variância ambiental ($\sigma_f^2 = \sigma_g^2 + \sigma^2$). A variância fenotípica pode ser estimada pela seguinte expressão: $\sigma_f^2 = \frac{QM_{genótipo}}{r}$, sendo r o número de repetições. A variância genotípica pode ser estimada pela seguinte expressão: $\sigma_g^2 = \frac{QM_{genótipo} - QM_{erro}}{r}$. A variância ambiental pode ser estimada pela seguinte expressão: $\sigma^2 = \frac{QM_{erro}}{r}$.

Pesquise mais

Macedo et al. (2013) estimaram os parâmetros genéticos e as correlações genéticas e fenotípicas em caracteres de crescimento e forma de 52 progênies de polinização aberta, coletadas de árvores matrizes. Assim, verificaram a possibilidade de fazer seleção na população estudada. As variáveis avaliadas foram o diâmetro à altura do peito (DAP), a altura total, o volume real e a forma das árvores. Após os estudos, observaram que há

variação genética entre e dentro das populações estudadas.

Fonte: MACEDO, Hugo Rodrigo et al. Variação, herdabilidade e ganhos genéticos em progênies de *Eucalyptus tereticornis* aos 25 anos de idade em Batatais-SP. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 100, n. 41, p. 533-540, 2013. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr100/cap10.pdf>. Acesso em: 26 set. 2016.

Herdabilidade e ganho de seleção

Prezado aluno, para você, o que é herdabilidade? Com os componentes de variância, mostrados anteriormente, podemos estimar o parâmetro herdabilidade (h^2). Esse parâmetro é de grande utilidade para os melhoristas, pois permite antever a possibilidade de sucesso com a seleção. A herdabilidade reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, ou seja, mede a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo.

A herdabilidade pode ser estimada pela seguinte expressão:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2} x100$$

Sendo que h^2 é a herdabilidade em porcentagem; σ_g^2 é a variância genética; e σ_f^2 é a variância fenotípica.

Outro parâmetro muito importante para o melhoramento genético, que está diretamente ligado à herdabilidade, é o ganho de seleção (GS). Diz-se que existe um ganho de seleção quando se melhora uma variável, em seleção, de uma geração para outra. Após calcular o ganho de seleção, é possível estimar a média melhorada da próxima geração, que será a média original mais o ganho de seleção. Assim, esse é o ganho obtido com a seleção adotada pelo programa de melhoramento genético florestal.

O ganho de seleção pode ser estimado pela seguinte expressão:

$$GS = \frac{h^2}{100} ds$$

Sendo que:

GS é o ganho de seleção; h^2 é a herdabilidade; e ds é o diferencial de seleção.

O diferencial de seleção é a diferença entre a média selecionada e a média original ($ds = M_s - M_o$).

Assimile

O ganho de seleção é um parâmetro genético de muita importância, pois permite que você tenha uma previsão do comportamento da próxima geração. Assimile os componentes de variância e a herdabilidade na estimativa desse parâmetro.

Podemos estimar também o ganho de seleção esperado em porcentagem (GS%), podendo compará-lo com outras situações, pela seguinte expressão:

$$GS\% = \frac{GS}{M_o} x\,100$$

Posteriormente, deve-se calcular a média melhorada (Mm) pela seguinte expressão:

$$M_m = M_o + GS$$

Sendo que M_m é a média melhorada; M_o é a média original; e GS é o ganho de seleção.

Exemplificando

Observa-se na Tabela 2.6 a análise de variância para dados hipotéticos de 18 genótipos de eucaliptos para exemplificarmos os cálculos da herdabilidade e ganho de seleção, que são parâmetros genéticos. Primeiramente, é importante ressaltar que o teste F foi significativo a 5% de probabilidade, portanto, há variabilidade genética e a população pode ser melhorada.

Tabela 2.6 | Resumo da análise de variância de dados hipotéticos de 18 genótipos de eucalipto para a variável diâmetro na altura do peito em centímetros

FV	GL	QM	F
Blocos	2	3,41	
Genótipos	17	25,22	4,93*
Erro	34	5,11	
Total	53	35,74	
Média		15,04	
CV (%)		15,03	

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.
Fonte: elaborada pela autora.

Do exposto, podemos calcular que a variância fenotípica é $\sigma_f^2 = \frac{QM_{genótipo}}{r} = \frac{25,22}{3} = 8,41$; a variância genotípica é

$\sigma_g^2 = \frac{QM_{genótipo} - QM_{erro}}{r} = \frac{25,22 - 5,11}{3} = 6,70$; e a variância ambiental é $\sigma^2 = \frac{QM_{erro}}{r} = \frac{5,11}{3} = 1,70$.

Com essas informações, podemos calcular a herdabilidade, $h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2} x\,100 = \frac{6,70}{8,41} x\,100 = 79,67\%$. Esse valor significa que 79,67% da variação do diâmetro das árvores de eucalipto é de natureza genética.

Para calcular o ganho de seleção, primeiramente precisamos calcular o diferencial de seleção. A média original é de 15,04 cm e a média selecionada é de 17,62 cm (média das plantas que foram selecionadas). Assim, o ds = Ms – M_o = 17,62 – 15,04 = 2,58 cm. Dessa forma, pode-se calcular o ganho de seleção em centímetros: $GS = \frac{h^2}{100} ds = \frac{79,67}{100} x\ 2,58 = 2,06\ \text{cm}$ e em percentual: $GS\% = \frac{GS}{M_o} x\,100 = \frac{2,06}{15,04} x\,100 = 13,70\%$. Por fim, calcula-se também a previsão da média melhorada: $M_m = M_o + GS = 15,04 + 2,06 = 17,10\ \text{cm}$. Assim, a média prevista do diâmetro da altura do peito para a próxima geração é de 17,10 centímetros.

Sem medo de errar

Caro aluno, agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada inicialmente? Nela, você está acompanhando os melhoristas da empresa de melhoramento florestal e já realizou a análise estatística de um experimento preliminar de cinco genótipos diferentes com quatro repetições e verificou que há variabilidade genética para a altura das plantas que foram plantadas há dois anos, portanto, permite seleção. Observa-se na análise de variância (Tabela 2.5) que os valores dos quadrados médios são: blocos (0,98), genótipos (17,80) e do erro (1,07). Além desses valores, observa-se também que a média foi 9,95 metros.

Para elaborar a segunda etapa do seu relatório sobre a aplicação da estatística no projeto com eucalipto, você deve responder a dois questionamentos, sendo eles: (i) Quais as principais funções da estatística no melhoramento? (ii) Qual o ganho de seleção percentual dessa população?

Com relação ao primeiro questionamento, vimos que suas principais funções são estimar os parâmetros genéticos, como componentes de variância, herdabilidade, ganho de seleção, entre outros. Quando estimados esses parâmetros, a estatística do melhoramento permite o estudo genético das populações, além de servir de subsídio para realizar o melhoramento genético florestal.

Com relação à segunda pergunta, considerando a média selecionada como 12,24 metros, primeiramente, deve-se calcular os componentes de variância. Assim, a variância fenotípica é $\sigma_f^2 = \frac{QM_{genótipo}}{r} = \frac{17,80}{4} = 4,45$; e a variância genotípica é $\sigma_g^2 = \frac{QM_{genótipo} - QM_{erro}}{r} = \frac{17,80 - 1,07}{4} = 4,18$.

Com os componentes de variância, calcula-se a herdabilidade, que é $h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2} x\, 100 = \frac{4,18}{4,45} x\, 100 = 93,93\%$. Esse valor significa que 93,93% da variação da altura das árvores de eucalipto são de natureza genética.

Tendo o valor da herdabilidade, o próximo passo é calcular o diferencial de seleção (ds) e o ganho de seleção. A média original é 9,95 metros e a média selecionada é de 12,24 metros (média das plantas que foram selecionadas). Assim, o ds = Ms – M_o = 12,24 – 9,95 = 2,29 metros. Com esses dados, é possível calcular o ganho de seleção, que é $GS = \frac{h^2}{100} ds = \frac{93,93}{100} x\, 2,29 = 2,15\ \text{m}$, e o ganho de seleção percentual, $GS\% = \frac{GS}{M_o} x\, 100 = \frac{2,15}{9,95} x\, 100 = 21,61\%$. Assim, pode-se afirmar que o ganho de seleção foi de 21, 61% em relação à média.

Avançando na prática

Herdabilidade no melhoramento genético

Descrição da situação-problema

Prezado aluno, para realizar o seu trabalho de conclusão de curso, você instalou um experimento, com três repetições, que avaliou o potencial de 20 genótipos diferentes de uma população de eucalipto (*Eucaliptus urophylla* x *Eucaliptus grandis*), o parental 1 (*Eucaliptus urophylla*) e o parental 2 (*Eucaliptus grandis*). Um dos resultados obtidos com o experimento foi que o quadrado médio de genótipos equivaleu a 69,57 e o quadrado médio do erro, a 25,69 para produtividade de madeira, sendo que os eucaliptos têm uma idade de quatro anos. Esse experimento foi realizado em parceria com uma empresa de melhoramento florestal.

Seus colegas, que estão entrando na graduação e o auxiliam, perguntaram a você: quais os significados de tratamento, parcela e variáveis? Outro questionamento realizado foi em relação à herdabilidade, qual seria o valor?

Resolução da situação-problema

Como vimos, o tratamento pode ser o método, o elemento ou o material cujo efeito deve ser medido e comparado com outros no experimento. Assim, pode-se dizer que o tratamento é uma condição imposta ou objeto que se deseja medir ou avaliar em um experimento.

A parcela, unidade experimental, pode ser o indivíduo ou a área experimental que vai receber o tratamento e fornecer os dados que deverão refletir o seu efeito. É a unidade de referência na qual serão avaliadas ou medidas todas as variáveis (características).

Vimos que a herdabilidade é a capacidade que um genótipo tem de transferir suas características para seus descendentes, ou seja, é a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, medindo a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo. Para calcular a herdabilidade, primeiramente precisa-se calcular a variância fenotípica $\sigma_f^2 = \frac{QM_{genótipo}}{r} = \frac{69,57}{3} = 23,19$ e a variância genética $\sigma_g^2 = \frac{QM_{genótipo} - QM_{erro}}{r} = \frac{69,57 - 25,69}{3} = 14,63$.

A herdabilidade da população é obtida, então, pela seguinte expressão:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2} x100 = \frac{14,63}{23,19} x\ 100 = 63,09\%.$$

Assim, a herdabilidade é igual a 63,09%. Tal fato significa que 63,09% da variação fenotípica são explicados pela variação genotípica, sendo essa herdável.

Faça valer a pena

1. É importante salientar que a estatística é a parte da matemática aplicada que se preocupa em obter conclusões a partir de dados experimentais, ou seja, permite obter conclusões válidas para toda uma população a partir de dados experimentais.

Para realizar o melhoramento florestal, é necessária a experimentação. Sendo assim, quais são os princípios da experimentação?

a) Repetição, controle local e interação.

b) Repetição, controle local e casualização.

c) Repetição, interação e casualização.

d) Controle local, interação e casualização.

e) Repetição, controle local, casualização e interação.

2. Parâmetros genéticos são as quantificações numéricas, da parte genotípica, que especifica a população no que diz respeito a alguma característica. A obtenção de estimativa de parâmetros genéticos tem muita importância em programas de melhoramento genético florestal.

É sabido que, para realizar o melhoramento de qualquer espécie, é necessário estimar alguns parâmetros genéticos. Dessa forma, qual das alternativas não é um parâmetro genético?

a) Herdabilidade

b) Ganho de seleção

c) Heterose

d) Variância genética

e) Codominância

3. Um importante parâmetro para o melhoramento genético florestal é o ganho de seleção. Diz-se que há um ganho de seleção quando se melhora uma variável, em seleção, de uma geração para outra. Imagine que, em seu trabalho de iniciação científica, você obteve os seguintes dados da análise de variância para altura de planta em *Pinus taeda*:

Quadrado médio de genótipo = 11,52;

Quadrado médio do erro = 5,85;

Número de repetições = 3;

Média original = 9 metros;

Média selecionada = 10,50 metros.

Analise os dados apresentados, calcule o ganho de seleção percentual (GS%) e marque a alternativa correta:

a) O GS% é 8,20%

b) O GS% é 7,90%

c) O GS% é 11,30%

d) O GS% é 15,12%

e) O GS% é 8,00%

Seção 2.3

Aplicação da genética quantitativa no melhoramento genético de plantas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Estamos na terceira parte da unidade *Princípios de genética quantitativa*. Continuando o nosso estudo, hoje veremos a aplicação da genética quantitativa no melhoramento genético de plantas, que é de grande relevância para predizermos se uma população pode ou não ser melhorada. Ao término desta seção, concluiremos o seu processo de aprendizagem sobre os principais conceitos relacionados à genética quantitativa.

Considere que você está acompanhando os melhoristas da empresa de melhoramento florestal e que, nesta etapa do projeto, você já realizou a análise estatística de um experimento preliminar de cinco populações diferentes com quatro repetições e verificou que há variabilidade genética para a altura das plantas de eucalipto e ganho de seleção. Imagine que posteriormente foram obtidos os dados de altura de plantas da geração F_1 e F_2, apresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7 | Alturas de plantas coletadas de eucalipto

Populações	Altura de plantas em metros	
	Geração F_1	Geração F_2
População 1	13	10
População 2	12	9
População 3	14	11
População 4	15	11
População 5	12	8

Fonte: elaborada pela autora.

Agora, você deverá realizar a terceira parte do seu relatório sobre a aplicação da genética quantitativa no melhoramento genético de plantas. Portanto, para cumprir com essa tarefa, você deve responder aos seguintes questionamentos: (i) Quais são os métodos para selecionar genitores? (ii) Dessas cinco populações, os melhoristas

desejam selecionar duas populações; quais você selecionaria? Essas questões serão discutidas e respondidas mais adiante.

Para auxiliá-lo na resolução desses e de outros problemas, abordaremos aqui os principais aspectos sobre o histórico da genética quantitativa, as características qualitativas e quantitativas, a seleção de cruzamento, a Anova e os método REML/BLUP.

Não pode faltar

Caro aluno, você se lembra do conteúdo da Seção 1.1? Nela, vimos que Gregor Mendel é considerado o pai da genética. Ele publicou seus experimentos com ervilhas em 1866, realizados no jardim do Mosteiro de Altbrünn, Áustria. Seus trabalhos geraram o fundamento da genética atual, considerada contemporaneamente uma ciência de potenciais, e possibilitaram o estudo de características controladas por um ou poucos genes, que podem ser classificadas em classes fenotípicas, sendo denominadas características qualitativas. Entretanto, a maioria das características agronômicas de interesse é controlada por muitos genes (poligênicas), sendo difícil a classificação em classes fenotípicas, pois seguem a distribuição contínua. Essas são denominadas características quantitativas.

O entendimento da genética quantitativa teve início com um trabalho de Herman Nilsson-Ehle, publicado em 1909. Nesse trabalho, ele utilizou duas linhagens de trigo puras, sendo uma de grãos brancos e outra de grãos vermelho-escuros, e realizou o cruzamento entre estas linhagens. Na F_1, foram encontrados apenas grãos com cor vermelha-intermediária. Entretanto, na geração F_2 foram obtidas sete classes fenotípicas diferentes, variando de forma gradual em relação à cor, sendo de grãos brancos a grãos vermelho-escuros. Na geração F_2, foram obtidos fenótipos parentais na proporção de 1/64 (grãos brancos e grãos vermelho-escuros). Tal situação não pode indicar controle por um gene, pois, para isso, deveríamos esperar que surgissem apenas três fenótipos na F_2 (1/4 de grãos brancos: 2/4 de grãos de cor intermediária: 1/4 de grãos vermelho-escuros).

Do exposto, Herman elaborou uma hipótese para explicar tais resultados, na qual três genes deveriam estar envolvidos na determinação da cor do grão de trigo. Cada gene possuiria dois tipos de alelos (um capaz de produzir o pigmento vermelho e outro que não seria capaz de produzir o pigmento vermelho, sendo representado pelas letras maiúsculas e minúsculas, respectivamente) e o controle da cor do grão na cultura do trigo seria determinado pelo número de alelos contribuintes para a cor vermelha. Dessa forma, cada alelo possui um efeito aditivo para o pigmento vermelho.

Assim, as plantas que produziam grãos brancos possuíam um genótipo aabbcc, e as que produziam grãos vermelho-escuros teriam o genótipo AABBCC. A geração

F_1 teria indivíduos heterozigóticos para os três genes (AaBbCc), possuindo cor intermediária. Já na geração F_2, teria sete classes fenotípicas diferentes, nas seguintes proporções: 1/64 : 6/64 : 15/64 : 20/64 : 15/64 : 6/64 : 1/64. Essas proporções geram uma distribuição contínua.

A genética quantitativa é de suma importância, pois fornece subsídio para o melhoramento genético florestal. Para isso, fundamenta-se na seleção das melhores plantas, utilizando informações fenotípicas da população. Essa seleção normalmente é realizada sem o conhecimento do número de genes e de seus efeitos, informações que atuam na determinação das características avaliadas. Dessa forma, tem-se assegurado o ganho genético contínuo em todas as características nos programas de melhoramento.

É por meio da genética quantitativa que se estudam as características controladas por muitos genes (poligênica), dando ênfase na herança e nos componentes de variância. Assim, cada gene contribui com um efeito relativamente pequeno, sendo fortemente influenciado pelo ambiente. A consequência dessa característica é que os valores normalmente seguem uma distribuição contínua (também conhecida como distribuição normal) dentro das populações. Em geral, a maioria das características de importância econômica são quantitativas.

Os genes que controlam essas características podem ser de efeitos aditivos ou de dominância. Os efeitos genéticos aditivos são devidos às ações diretas de cada alelo, sendo seus efeitos herdáveis. Já os efeitos genéticos devido à dominância são resultantes da ação conjunta dos alelos nos cromossomos homólogos, dentro do mesmo loco. Esse efeito depende do arranjo genético de cada genótipo, portanto, não são herdáveis. Em relação à seleção das plantas, o interesse é no valor genético aditivo, pois este é herdável. Dessa forma, a variância genética é composta pela variância genética aditiva (devido aos efeitos aditivos) e pela variância genética de dominância (devido aos efeitos de dominância). Assim, temos o seguinte modelo: $\sigma_g^2 = \sigma_a^2 + \sigma_d^2$, sendo que σ_g^2 é a variância genética, σ_a^2 é a variância genética aditiva e σ_d^2 é a variância genética de dominância.

O estudo das características quantitativas normalmente faz uso da estatística, pois os fenótipos estudados são produção de madeiras, diâmetro na altura do peito, altura de plantas, entre outros, que são obtidos por mensurações. Dessa forma, não há como identificar as classes fenotípicas distintas, como no caso dos caracteres qualitativos. Assim, os estudos genéticos são realizados a partir das estimativas das médias, variâncias, coeficientes de regressão e correlação.

Reflita

Prezado aluno, nós vimos que características qualitativas são controladas por poucos genes e que características quantitativas são controladas por muitos genes. Além disso, suas estratégias de melhoramento são diferentes. Em um programa de melhoramento, considerando que ambas são importantes, como deve ser as estratégias para realizar o melhoramento levando em consideração as características qualitativas e quantitativas?

Características qualitativas e quantitativas

A genética quantitativa é uma ciência que pertence à genética e que tem a finalidade de estudar as características quantitativas. É controlada por muitos genes, sendo esses fortemente influenciados pelo ambiente, tendo como consequência, na maioria das vezes, variações contínuas. As características qualitativas são aquelas que possuem herança monogênica ou oligogênica (poucos genes), tendo pouca ou nenhuma influência ambiental.

O estudo da herança e da variação de características qualitativas baseia-se no estudo das gerações, sendo que os resultados dos cruzamentos são separados em classes e suas proporções são avaliadas. No entanto, no estudo da herança de características quantitativas, as informações individuais têm pouco valor devido à influência do ambiente (efeito ambiental). Como o efeito ambiental tem o poder de aumentar ou diminuir a expressão fenotípica (manifestação da característica), a média torna-se uma medida mais confiável, pois essa é oriunda de um conjunto de indivíduos. Dessa forma, os efeitos ambientais tendem a se cancelar, pois são aleatórios.

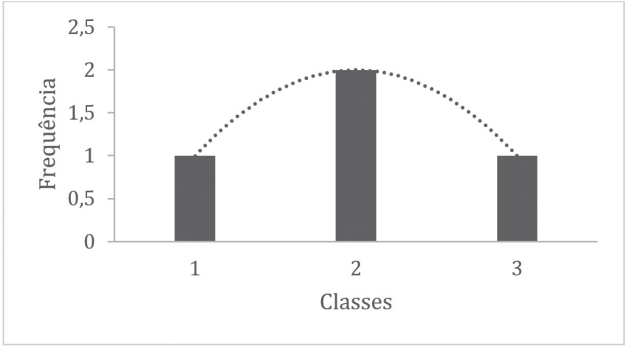
Do exposto, pode-se inferir que as características quantitativas são estudadas em nível populacional. Um outro parâmetro usado para estudar uma população, além da média, é a variância. Portanto, no estudo da herança das características quantitativas são avaliadas quais proporções das médias e das variâncias são herdáveis.

Apesar das diferenças entre características qualitativas e quantitativas, são observadas características que podem ser estudadas por meio da genética quantitativa ou qualitativa. Dessa forma, a quantidade de sementes por fruto, por exemplo, é uma caraterística descontínua fenotipicamente, entretanto a descontinuidade não está completamente sob efeito genético, podendo ser estudada na genética quantitativa. Apesar da característica altura de planta ser contínua, ela pode ser estudada na genética qualitativa se a classificarmos em classes de plantas altas, médias e baixas. Portanto, características quantitativas podem ser avaliadas em classes discretas, mesmo sob efeito do ambiente, sendo, assim, estudadas qualitativamente.

Vale ressaltar que, conforme aumenta o número de genes controlando uma

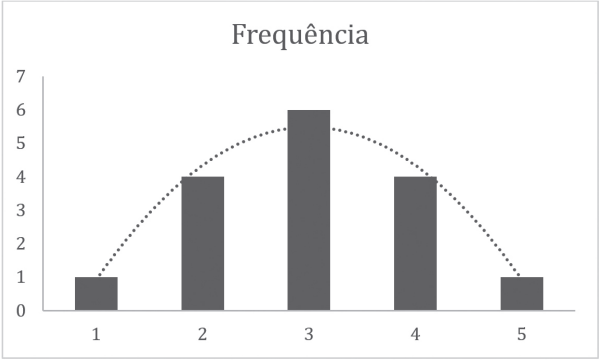
determinada característica, aumenta-se também a quantidade de classes fenotípicas. Quando se tem um gene com efeito aditivo controlando uma característica, tem-se três classes fenotípicas (Figura 2.2); se forem dois genes, teremos cinco classes (Figura 2.3), e, se tivermos três genes, teremos sete classes fenotípicas (Figura 2.4), sendo que os valores seguem uma distribuição contínua. Assim, o número total de alelos é m=2n, sendo "m" o número de alelos totais e "n" o número de genes, e o número total de fenótipos é 2n+1. Quanto maior a quantidade de genes, maior será a quantidade de classes, aumentando a dificuldade de selecionar a melhor classe pela genética mendeliana. Portanto, é necessário utilizar as ferramentas de genética quantitativa.

Figura 2.2 | Frequência da segregação fenotípica para uma característica controlada por um gene com efeito aditivo



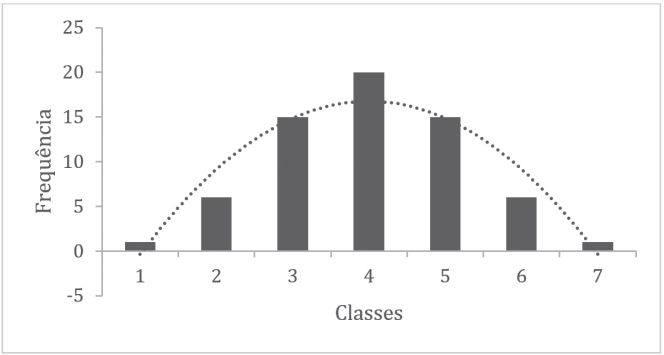
Fonte: elaborada pela autora.

Figura 2.3 | Frequência da segregação fenotípica para uma característica controlada por dois genes com efeito aditivo



Fonte: elaborada pela autora.

Figura 2.4 | Frequência da segregação fenotípica para uma característica controlada por três genes com efeito aditivo



Fonte: elaborada pela autora.

Assimile

Observa-se que existem características que são de herança qualitativas e há caraterísticas que são de herança quantitativa. Em um programa de melhoramento, trabalha-se com ambas as características. Dessa forma, a estratégia de melhoramento deve ser eficiente para contemplar os dois aspectos.

Seleção de cruzamento

Para que possamos ter sucesso no melhoramento de uma determinada espécie, primeiramente, precisamos selecionar bons parentais. Caso selecione parentais inadequados, todo o processo será prejudicado, pois dificilmente obteremos genótipos superiores aos cultivados. Como genitores (parentais), pode-se, por exemplo, utilizar uma cultivar em uso e genótipos de bancos de germoplasma, que podem ter uma característica específica ou não, ou seja, utilizam-se genótipos que têm potencial para gerar novos genótipos superiores com potencial de mercado. Para selecionar os genitores, podemos utilizar os seguintes métodos: comportamento por si dos genitores, fenótipo para características importantes, histórico do genitor, método da capacidade combinatória, marcadores moleculares e estimativa m + a, entre outras.

O comportamento por si dos genitores consiste em realizar o cruzamento entre as duas melhores cultivares e que a média dos genitores estabeleça o desempenho da progênie. Esse é o caso de quando a maior parte da variância genética é aditiva. Normalmente, observa-se essa situação em plantas autógamas. O método fenótipo para características importantes enfatiza a complementaridade entre os genitores para características desejadas dentro do programa de melhoramento. Assim, procura-se otimizar as características de interesse de ambos genitores em um novo genótipo. O método histórico do genitor consiste na análise dos genótipos oriundos desse genitor.

Assim, genitores que deram origem a bons genótipos são genitores em potencial.

O método da capacidade combinatória consiste em realizar experimentos para verificar o potencial de prováveis genitores. Para isso, pode-se realizar a análise dialélica ou o top cross. A análise dialélica é um delineamento genético muito poderoso, por qualificar a variabilidade genética da característica e avaliar o valor genético dos genitores e sua capacidade de combinações, que podem ser gerais ou específicas. Esta análise pode ser um dialelo completo e parcial. No dialelo completo, todos os genitores se combinam, totalizando (g(g-1)/2) cruzamentos, sendo "g" o número de genitores. Já o dialelo parcial constitui no cruzamento entre dois grupos distintos, totalizando g1xg2 cruzamentos, sendo "g_1" o número de genitores do grupo 1 e "g_2" o número de genitores do grupo 2. O método top cross consiste em cruzar todos os genitores com um testador comum, avaliando a sua capacidade de combinação. O modelo estatístico do top cross é:

$$Y_{ij} = m + g_i + e_{ij}$$

Onde Y_{ij} é o híbrido entre o i-ésimo genitor com o testador; gi é a capacidade combinatória do genitor i; e_{ij} é o erro experimental. Assim, a capacidade de combinação no top cross pode ser estimada da seguinte forma:

$$g_i = \overline{c}_i - \overline{c}.$$

Onde g_i é a capacidade de combinação do i-ésimo genitor; $\overline{c}_i$ é a média do híbrido i; $\overline{c}.$ é a média geral. A capacidade geral de combinação (CGC) refere-se à habilidade que um genitor tem de produzir descendentes com um dado comportamento quando cruzado com uma série de outros genitores. A capacidade específica de combinação (CEC) refere-se ao comportamento de uma combinação específica. Quanto maior for a capacidade de combinação, maior a probabilidade de que esse seja um bom genitor.

O método m + a foi proposto por Vencovsky (1987) e baseia-se no fato de que as populações cuja frequência alélica dos locos não fixados é 0,5. A estimativa de m + a avalia o potencial da população segregante em relação aos locos fixados. Dessa forma, uma população com maior estimativa de m + a possui, em relação a outra, maior ocorrência de locos com alelos favoráveis em homozigose. A estimativa de m + a pode ser obtida pela seguinte expressão:

$$2F_2 - F_1$$

Onde F_1 é a primeira geração; e F_2 é segunda geração, essa obtida por meio da autofecundação da F_1.

Exemplificando

Em um programa de melhoramento de eucalipto, têm-se duas populações e pretende-se selecionar apenas uma das duas. Para isso, será

utilizada a metodologia m + a. A população 1 obteve os seguintes dados de produtividade de madeira: F_1 = 0,59 m³ e F_2 = 0,32 m³, e a população 2, F_1 = 0,49 m³ e F_2 = 0,35 m3.

População 1 = $2F_2 - F_1 = 2x0,32 - 0,59 = 0,05$

População 2 = $2F_2 - F_1 = 2x0,35 - 0,49 = 0,21$

Apesar de a população 1 ter a maior produtividade na F_1, deve-se selecionar a população 2, pois essa obteve o maior m + a. Tal fato indica que essa população tem mais alelos favoráveis fixados.

Anova e método REML/BLUP

Caro aluno, você se lembra da Seção 2.1? Nela, vimos a análise de variância (Anova) e que em experimentos de campo normalmente utiliza-se o delineamento em blocos ao acaso. Vimos também, na Seção 2.2, que, para estimar os parâmetros genéticos, precisamos instalar experimentos e realizar as análises de variância.

Para realizarmos o melhoramento de plantas perenes (a maioria das plantas florestais são perenes), as técnicas de avaliação genética são de suma importância, permitindo a predição dos valores genéticos aditivos e genotípicos dos genótipos com potencial para seleção. Assim, a seleção será mais acurada. Essas técnicas são importantes tanto para o melhoramento intrapopulacional quanto para o melhoramento interpopulacional.

Valores genéticos são variáveis aleatórias não observáveis, preditas por meio dos valores fenotípicos observáveis, ou seja, das observações obtidas de um experimento. A predição dos valores genéticos pode ser realizada de forma pontual ou por intervalos. Deve ser precisa e com uma boa acurácia, com o objetivo de aumentar os ganhos pretendidos, diminuindo as possibilidades de erro na seleção. A predição pontual fornece os valores genéticos preditos e a intervalar inclui os intervalos de confiança dos valores e dos ganhos genéticos. Dessa forma, será proporcionada uma recomendação mais segura.

Tais estimativas podem ser obtidas por meio do BLUP (melhor predição linear não viciada) em nível individual, um procedimento ótimo de predição de valores genéticos. Outro procedimento padrão de estimação de componentes de variância é o da máxima verossimilhança restrita (REML), desenvolvido por Patterson e Thompson (1971). O método REML possui propriedades estatísticas superiores quando comparadas àquelas do método dos mínimos quadrados, para a estimação dos parâmetros genéticos com populações não balanceadas, ou seja, não há necessidade de que todas as populações tenham o mesmo tamanho. Devido às vantagens desse método, seu emprego no melhoramento florestal tem crescido expressivamente.

Diante de tal situação, Resende (2002) relata sobre o software SELEGEN – Seleção

Genética, que tem por objetivo realizar a análise de qualquer tipo de dado, pelo procedimento ótimo de Máxima Verossimilhança Restrita (REML) e Melhor Predição Linear Não Viciada (BLUP), com aperfeiçoamentos contemplando cinquenta diferentes estruturas experimentais, inclusive testes de progênies e procedências em vários locais, com estudo de interação genótipo x ambiente.

Pesquise mais

O melhoramento genético em espécies florestais é muito importante para a sustentabilidade da cultura com acréscimo em produtividade, redução de custo e maiores lucratividades. A metodologia REML/BLUP é uma excelente estratégia no melhoramento florestal. O documento 47 da EMBRAPA (RESENDE, 2000) disponibiliza maiores esclarecimentos sobre esta metodologia.

RESENDE, M. D. V. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na experimentação em melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/15427875.pdf>. Acesso em: 8 out. 2016.

Sem medo de errar

Caro aluno, agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada inicialmente? Nela, você acompanha os melhoristas da empresa de melhoramento florestal, já realizou a análise estatística de um experimento preliminar de cinco populações diferentes com quatro repetições e verificou que há variabilidade genética para altura das plantas e também ganho de seleção. Com esses dados, construímos as duas primeiras etapas do seu relatório exigido na empresa. Agora, vamos finalizá-lo.

Para elaborar a etapa final do relatório, primeiramente, você deve incluir no documento "(i) Quais são os métodos para selecionar genitores?". Vimos que os métodos para selecionar genitores são: comportamento por si dos genitores, fenótipo para características importantes, histórico do genitor, método da capacidade combinatória, seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) e estimativa m + a, entre outros.

Ressalte em seu estudo que o comportamento por si dos genitores consiste em realizar o cruzamento entre as duas melhores cultivares e que a média dos genitores estabeleça o desempenho da progênie. O método fenótipo para características importantes enfatiza a complementaridade entre os genitores para características desejadas dentro do programa de melhoramento, ao passo que o método histórico do genitor consiste na análise dos genótipos oriundos deste genitor.

Não menos importante, destaque que o método da capacidade combinatória consiste em realizar experimentos para verificar o potencial de prováveis genitores. Para isso, pode-se realizar a análise dialélica ou o top cross. A metodologia de análise dialélica tem por finalidade analisar o delineamento genético e, como você estudou nesta seção, é uma ferramenta muito poderosa, por qualificar a variabilidade genética da característica e avaliar o valor genético dos genitores e as capacidades de combinações, que são gerais e específicas. O método top cross consiste em cruzar todos os genitores com um testador comum. Por fim, a metodologia m+a leva em consideração que a metade dos alelos estão fixados na população. A estimativa de m + a avalia o potencial da população segregante em relação aos locos fixados.

Adicionalmente, você deve incluir em seu relatório uma consideração muito importante, baseada na Tabela 2.7, referente à altura de plantas de eucalipto da geração F_1 e F_2 coletadas, respondendo: "(ii) Dessas cinco populações, os melhoristas desejam selecionar duas, quais você selecionaria para sua empresa? ".

Tabela 2.7 | Altura de plantas coletadas de eucalipto

Populações	Altura de plantas em metros	
	Geração F_1	Geração F_2
População 1	14	10
População 2	12	9
População 3	14	11
População 4	15	11
População 5	12	8

Fonte: elaborada pela autora.

Para responder a essa questão, primeiramente precisamos escolher qual metodologia utilizar. Como temos informações sobre a geração F_1 e F_2, podemos utilizar a metodologia m + a, estudada anteriormente. Dessa forma, devemos calcular os valores de m + a para todas as populações.

População 1: $2F_2 - F_1 = 2x10 - 14 = 6 \text{ metros}$; População 2: $2F_2 - F_1 = 2x9 - 12 = 6 \text{ metros}$;

População 3: $2F_2 - F_1 = 2x11 - 14 = 8 \text{ metros}$; População 4: $2F_2 - F_1 = 2x11 - 15 = 7 \text{ metros}$;

População 5: $2F_2 - F_1 = 2x8 - 12 = 4 \text{ metros}$.

As populações 1, 2, 3, 4 e 5 obtiveram os valores de m + a de 6, 6, 8, 7 e 4 metros, respectivamente. Observa-se que os maiores valores de m + a são das populações 3 e 4 com 8 e 7 metros, respectivamente. Portanto, conclua que essas populações serão selecionadas e comporão o programa de melhoramento.

Avançando na prática

Avaliação de genótipos por meio do método top cross

Descrição da situação-problema

Você está prestes a se formar em Engenharia Florestal e o seu trabalho de conclusão de curso será na área de melhoramento genético florestal. Você irá analisar sete híbridos top crosses de eucaliptos para altura de plantas, sendo que sete genótipos foram cruzados com um genótipo testador para produzir os híbridos top crosses, apresentados na Tabela 2.8. Agora, responda: quais são os dois híbridos que você deve selecionar?

Tabela 2.8 | Altura de plantas de híbridos top crosses de eucalipto

Híbridos	Altura de plantas em metros
Híbrido 1	13
Híbrido 2	12
Híbrido 3	14
Híbrido 4	17
Híbrido 5	14
Híbrido 6	15
Híbrido 7	12

Fonte: elaborada pela autora.

Resolução da situação-problema

Primeiramente, deve-se fazer a média e a capacidade de combinação ($g_i = \overline{c}_i - \overline{c}.$), que estão na Tabela 2.9.

Tabela 2.9 | Altura de plantas de híbridos top crosses de eucalipto

Híbridos	Altura de plantas em metros	
	Geração F_1	Capacidade de combinação
Híbrido 1	13,00	-0,86 (13,00-13,86)
Híbrido 2	12,00	-1,86 (12,00-13,86)
Híbrido 3	14,00	0,14 (14,00-13,86)
Híbrido 4	17,00	3,14 (17,00-13,86)
Híbrido 5	14,00	0,14 (14,00-13,86)
Híbrido 6	15,00	1,14 (15,00-13,86)
Híbrido 7	12,00	-1,86 (12,00-13,86)
Média	13,86	

Fonte: elaborada pela autora.

Assim, você deve selecionar os híbridos 4 e 6, cujas capacidades de combinação foram superiores, com 3,14 metros e 1,14 metros, respectivamente.

Faça valer a pena

1. Um dos conhecimentos em genética quantitativa é que, conforme aumenta o número de genes controlando uma determinada característica, aumenta-se também a quantidade de classes fenotípicas. Quando se tem um gene com efeito aditivo controlando uma característica, tem-se três classes fenotípicas; se forem dois genes, teremos cinco classes, e, se tivermos três genes, teremos sete classes fenotípicas, sendo que os valores seguem uma distribuição contínua.

Do exposto, levando em consideração que você está estudando uma característica controlada por 10 genes diploides com efeitos aditivos, quais os números de fenótipos possíveis?

a) 18 fenótipos diferentes.

b) 20 fenótipos diferentes.

c) 21 fenótipos diferentes.

d) 22 fenótipos diferentes.

e) 19 fenótipos diferentes.

2. O método m + a é baseado no fato de que as populações cuja frequência alélica dos locos não fixados é 0,5. A estimativa de m + a avalia o potencial da população segregante em relação aos locos fixados. Dessa forma, uma população com maior estimativa de m + a possui, em relação a outra, maior ocorrência de locos com alelos favoráveis em homozigose.

Assim, considere uma população de pinus com uma média de DAP de 19 cm para a geração F_1 e com 15 cm para a geração F_2. Qual o valor de m + a dessa população?

a) 12

b) 11

c) 10

d) 21

e) 13

3. Valores genéticos são variáveis aleatórias não observáveis, que são preditas por meio dos valores fenotípicos observáveis, ou seja,

as observações obtidas de um experimento. A predição dos valores genéticos pode ser realizada de forma pontual ou por intervalos e deve ser precisa e com uma boa acurácia, com o objetivo de aumentar os ganhos pretendidos, diminuindo as possibilidades de erro na seleção.

Assim, os valores genéticos podem ser obtidos por meio da melhor predição linear não viciada e pela máxima variância restrita. Marque a alternativa que corresponde a tais metodologias:

a) BLUP e REML, respectivamente.

b) REML e BLUP, respectivamente.

c) Dialelo e top cross, respectivamente.

d) Top cross e dialelo, respectivamente.

e) Dilelo e m + a, respectivamente.

Referências

BORÉM, A.; MIRANDA G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. 523 p.

CARNEVALI, T. **Tabelas do teste f, 10, 5, 1%**. SlideShare. 2014. Disponível em: <http://pt.slideshare.net/ThiagoCarnevali/tabelas-f>. Acesso em: 17 set. 2016.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005.

_____. **Programa Genes**: estatística experimental e matrizes. Viçosa: UFV, 2006.

_____; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Livraria Nobel S.A., 1990.

HICKS, C. R. **Fundamental concepts in the design of experiments**. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1973.

MACEDO, H. R. et al. Variação, herdabilidade e ganhos genéticos em progênies de Eucalyptus tereticornis aos 25 anos de idade em Batatais-SP. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 100, n. 41, p. 533-540, 2013. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr100/cap10.pdf>. Acesso em: 26 set. 2016.

MEMÓRIA, J. M. P. **Breve história da estatística**. Brasília: Embrapa, 2004. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/110361/breve-historia-da-estatistica>. Acesso em: 18 set. 2016.

NILSSON-EHLE, H. **Kreuzunguntersuchungen an Hafer und Weizen**. Lunds. Univ Aarskz, 1909.

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. **Biometrika**, London, v. 58, p. 545-554, 1971. Disponível em: <http://www.lce.esalq.usp.br/arquivos/aulas/2012/LCE5872/Patterson.Thompson.71.pdf>. Acesso em: 8 out. 2016.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 5. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012.

_____; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005.

RESENDE, M. D. V. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na**

experimentação em melhoramento de plantas perenes. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/15427875.pdf>. Acesso em: 8 out. 2016.

_____. **Software SELEGEN-REML/BLUP**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. (Embrapa Florestas, Documento 77). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/307175/software-selegen---remlblup>. Acesso em: 8 out. 2016.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERENIANI, Ernesto; VIEGAS, Glauco. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 137-209.

Princípios da biotecnologia e recursos genéticos vegetais

Convite ao estudo

Estimado aluno, como você já estudou sobre os princípios do melhoramento genético florestal, as leis de Mendel, a herança genética, os delineamentos experimentais e as estatísticas genéticas, e aplicou a genética quantitativa ao melhoramento, logo você estará apto, ao final desta unidade, para compreender como a biotecnologia atua no melhoramento genético florestal e quais são os recursos genéticos vegetais. Além disso, você conseguirá relacionar tudo isso aos tipos de reprodução das plantas. Vamos, então, continuar os nossos estudos!

Daremos início à terceira unidade de ensino, que tem por nome "Princípios da biotecnologia e recursos genéticos vegetais". Nesta unidade, estudaremos a biotecnologia, os recursos genéticos e os sistemas reprodutivos das plantas. Esses temas vão demonstrar como a biotecnologia pode auxiliar na área do melhoramento florestal e como podemos utilizar os recursos genéticos.

Para que você possa aplicar os conteúdos que serão aprendidos aqui, imagine que a empresa de melhoramento florestal voltada para a fabricação de papel e celulose em que está atuando como trainee colocou você em outro projeto para acompanhar e trabalhar junto com os pesquisadores melhoristas. Você vai agora mapear geneticamente as plantas de *Eucalyptus urophylla* conservadas *ex situ* no campo por meio de marcadores moleculares microssatélites com o objetivo de encontrar regiões genômicas que controlam características de interesse, como diâmetro à altura do peito (DAP). Portanto, reflita: qual a importância em conhecer o sistema reprodutivo da espécie para o melhoramento? O *Eucalyptus urophylla* é uma espécie muito utilizada no Brasil para fabricação de papel e celulose e é uma das únicas que ocorrem naturalmente fora do seu centro de origem, que é a Indonésia e o Timor Leste.

Como uma de suas atribuições como trainee, você deve montar um roteiro de apresentação dos seus conhecimentos adquiridos para apresentar aos pesquisadores da empresa. O roteiro deverá conter três partes, que serão desenvolvidas seção após seção, sendo elas: 1ª) como a biotecnologia pode auxiliar no melhoramento genético da espécie florestal? 2ª) como a diversidade genética está relacionada com o melhoramento dessa espécie? 3ª) qual a importância em conhecer o sistema reprodutivo da espécie para o melhoramento?

Você faz ideia do que seja um marcador molecular? E sequenciamento de DNA? Já ouviu sobre genômica, proteômica e transcriptômica? O que você sabe sobre conservação *in situ* e *ex situ*? Já pensou o que são plantas autógamas ou alógamas? Esta unidade tem uma grande importância para esta disciplina, pois você irá utilizá-la para cumprir com o seu papel na empresa de melhoramento e responder a esses e a outros questionamentos. Vamos voltar aos estudos? Bom trabalho!

Seção 3.1

Biotecnologia

Diálogo aberto

Olá, aluno! Você imagina como a biotecnologia pode auxiliar no melhoramento genético? Nesta seção, trabalharemos os conhecimentos genéticos utilizando ferramentas da biotecnologia no melhoramento genético florestal.

Tais conhecimentos serão importantes para a sua atuação como trainee. Relembrando, você está atuando em uma empresa de melhoramento florestal voltada para a fabricação de papel e celulose e irá efetuar a primeira etapa do seu relato de aprendizado, apresentado anteriormente, que deve abordar como a biotecnologia pode auxiliar no melhoramento genético da espécie florestal em questão. Relembrando o contexto, você está acompanhando os pesquisadores melhoristas da empresa na busca de variabilidade e mapeamento genético das plantas de *Eucalyptus urophylla* conservadas *ex situ*. Para isso, eles utilizaram de marcadores moleculares do tipo microssatélites (SSRs), altamente polimórficos, com o objetivo de encontrar regiões gênicas que controlem as características de interesse da planta, como diâmetro à altura do peito (DAP).

Em uma conversa durante uma reunião com o seu grupo de pesquisa, foi apresentada novamente uma prévia do projeto para alguns pesquisadores visitantes e colaboradores. Foi abordado sobre os marcadores moleculares utilizados e os objetivos específicos da pesquisa. Você percebeu que realmente as informações são complexas e que necessitaria revisar alguns conceitos aprendidos durante a sua graduação para acompanhar o grupo. Seu gestor, inclusive, solicita a redação de uma parte introdutória no seu relatório. Dessa forma, você deve responder aos seguintes questionamentos, que caracterizam a primeira etapa do seu relato de conhecimento científico, sendo eles: 1ª) o que são marcadores microssatélites e como eles podem auxiliar no melhoramento da espécie estudada? 2ª) qual a importância de realizar o sequenciamento de DNA de tal espécie? 3ª) como o mapeamento genético auxilia no seu melhoramento?

Para compreendermos como isso é possível, abordaremos os conhecimentos sobre os principais marcadores moleculares utilizados, o mapeamento genético, o sequenciamento de DNA, a genômica, a proteômica e a transcriptômica. Monte a

primeira parte do seu roteiro da apresentação relacionando essas questões, pois isso é muito importante para formar o seu raciocínio. Elas serão discutidas e respondidas mais adiante.

Não pode faltar

A genômica elucida o genoma de um organismo e também o papel dos genes que o compõem desde o ponto de vista estrutural e funcional (Figura 3.1). Ela é composta por três partes:

– A genômica estrutural, que identifica, isola e caracteriza o genoma de um organismo (conjunto de genes). Diversos projetos de sequenciamento de genes expressos em espécies florestais foram desenvolvidos nos últimos anos. A maior parte dos projetos que envolvem a genômica estrutural em arbóreas possui como objetivo principal a identificação de genes específicos no processo de formação da madeira e resistência a estresses abióticos e a patógenos. Várias sequências foram obtidas dos genes que codificam as enzimas envolvidas na biossíntese de lignina, de celulose e hemicelulose, proteínas estruturais de parede celular, fatores de transcrição e outras proteínas reguladoras.

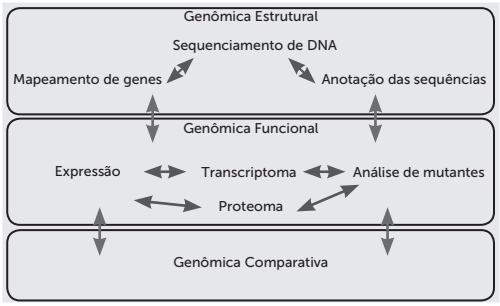
– A genômica funcional descreve a função biológica dos genes e como eles interagem para definir um fenótipo determinado. Dessa forma, as novas tecnologias, como a proteômica, correlacionadas com o melhoramento genético, podem gerar dados de plantas que apresentam melhor desempenho no crescimento, por exemplo, além de resistência a fatores bióticos e abióticos. Tudo isso para corresponder à demanda crescente do mercado das indústrias de papel e celulose, siderúrgicas e moveleira. Com a proteômica, é possível compreender se um produto gênico será expresso e quando isso ocorrerá, a sua concentração e como atua por meio de interações moleculares em locais específicos da célula. Assim, a análise do proteoma excede à listagem das proteínas, gerando indícios substanciais quanto à organização e à dinâmica dos processos metabólicos, como a comunicação celular.

– A genômica comparativa, como o nome já diz, compara e estuda a evolução dos genomas.

Quando se observa, isoladamente, o genoma de um único organismo, fora de seu contexto evolutivo, não é possível obter um conhecimento aprofundado de si mesmo, sendo recomendado estudar comparativamente os genomas das espécies. Como ocorre na prática, em que se comparam sequências genômicas de diferentes microrganismos que estão contribuindo em demasia para elucidar aspectos fundamentais da genética, da bioquímica e da evolução de outras espécies. Estudos comparativos de genomas podem revelar a natureza complexa da estrutura e organização dos genomas, além de verificar a enorme diversidade genética entre os

organismos, acarretando em questionamentos essenciais sobre os mecanismos pelos quais esses organismos evoluem e como devem ser classificados taxonomicamente. Um exemplo seria a identificação e análise de sequências gênicas de uma determinada espécie arbórea, que correspondem a fatores de transcrição, incluindo a análise filogenética.

Figura 3.1 | Níveis da pesquisa genômica



Fonte: elaborada pelo autor.

Pesquise mais

A título de curiosidade, o site NCBI, Centro Nacional de Informação Biotecnológica, possui todos os genomas já estudados e os que estão em estudos. Acesse e veja!

Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes>. Acesso em: 10 out. 2016.

A genômica engloba a proteômica e a transcriptômica. A proteômica é o estudo em larga escala das proteínas expressas em uma determinada célula, tecido ou organismo, reunindo a análise quantitativa da expressão por um período, em várias localizações celulares e/ou sob a influência de diferentes estímulos. O proteoma complementa o genoma, já que os genes podem ser transcritos em RNA mensageiros que, ocasionalmente, serão traduzidos em proteínas. Além de analisar isoladamente cada um dos componentes proteicos de um sistema, a proteômica pretende auxiliar, também, na compreensão sistêmica da função biológica das proteínas em seu contexto molecular complexo.

Já a transcriptômica estuda o conjunto completo de transcritos (RNAs mensageiros, RNAs transportadores, RNAs ribossômicos e os microRNAs) de um determinado organismo, tecido, órgão ou linhagem celular, em um dado momento. Sendo assim, ela é o reflexo direto da expressão dos genes naquele momento. O transcriptoma vai corresponder à fração do código genético (DNA) a qual é transcrita pela RNA polimerase em moléculas de RNA e que irá depender, por exemplo, do estágio do desenvolvimento da planta, do estado fisiológico e do tipo de tecido analisado. Além disso, caracteriza polimorfismos associados aos genes transcritos.

Assimile

A genômica compreende o genoma de um organismo e também o papel dos genes que o compõem desde o ponto de vista estrutural e funcional. A proteômica é o estudo em larga escala das proteínas expressas. E a trascriptômica é estudo do conjunto completo de transcritos (RNAs mensageiros, RNAs transportadores, RNAs ribossômicos e os microRNAs).

Reflita

Sabe-se que as proteínas são responsáveis por diversos processos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos, como o estresse salino de plantas.

Por que a análise proteômica destaca-se em relação à transcriptoma, nesse caso?

Vocabulário

Polimorfismo são variações em nível de material genético entre plantas da mesma ou de diferentes espécies.

Marcadores moleculares

Prezado aluno, você sabe o que é biotecnologia? A biotecnologia estuda a aplicação tecnológica em sistemas biológicos, organismos vivos, ou seus derivados, para produzir ou modificar produtos ou processos para uma utilização definida. Você deve imaginar que essa tecnologia seja recente, mas, no entanto, não é. Acredita-se que ela pode ter surgido há mais de 6.000 mil anos a.C., a partir dos relatos de que os microrganismos eram utilizados nos processos fermentativos para produção de pães e cervejas. Entretanto, foi a partir de 1950 que a biotecnologia, com a descoberta da síntese química do DNA e com as técnicas do DNA recombinante, passou, de fato, a existir.

O ramo mais recente da biotecnologia agrícola é a biologia molecular. Essa é conceituada como a ciência que estuda as interações bioquímicas celulares envolvidas na duplicação do material genético e na síntese proteica. Os fragmentos de DNA a serem analisados por marcadores moleculares são formados pela ação de enzimas de restrição que fragmentam a cadeia de nucleotídeos do DNA, num processo chamado clivagem, que ocorre em locais específicos à ação de cada enzima. Através da clivagem, obtêm-se fragmentos com diferentes tamanhos, baseado no número de nucleotídeos que cada fragmento possui. Esses fragmentos são separados por uma técnica muito utilizada chamada eletroforese em géis de agarose. Esses géis são preparados com uma substância chamada ágar, que é dissolvida em água fervente e, após alguns minutos esfriando, solidifica-se, como ocorre com a gelatina. O DNA com

os marcadores moleculares específicos da espécie a ser analisada é introduzido em pequenos poços do gel e uma corrente elétrica é aplicado ao gel, no qual os fragmentos migrarão através dele. Os fragmentos menores irão migrar mais rapidamente que os maiores. É por meio da distribuição no gel desses fragmentos de diferentes tamanhos que se estuda a variabilidade genética entre os indivíduos analisados.

Partindo desses conceitos, existem ferramentas que auxiliam os estudos genéticos em plantas, por exemplo, pelo uso de marcadores moleculares altamente polimórficos. Os marcadores moleculares são sequências de DNA que vão informar se há polimorfismo na sequência genômica analisada. A principal colaboração dos marcadores foi a possibilidade de analisar especialmente o genótipo de um indivíduo, sem a necessidade da observação da expressão fenotípica, excluindo a influência do ambiente na manifestação das características desejáveis.

Como estratégia para selecionar caracteres desejáveis e complexos, a seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) é uma das ferramentas do melhoramento mais utilizada, pois aumenta a confiabilidade dos resultados e reduz o tempo da pesquisa. Os marcadores moleculares vão detectar locos controladores de caracteres quantitativos (QTLs) e, dessa forma, obter mais rapidamente a seleção de determinada característica desejável ao melhoramento.

Entre os marcadores moleculares mais utilizados e baseados em análises de amplificação do DNA, estão: o AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados), os microssatélites (repetições em tandem de sequências simples – SSRs) e as SNPs (polimorfismo de nucleotídeos únicos). Os marcadores microssatélites, também chamados de sequências simples repetidas (SSRs) (Figura 3.2), caracterizados por sequências de 1 a 5 nucleotídeos repetidos em tandem, dispersos em todo o genoma eucarioto. Esses marcadores são os mais utilizados para diversos estudos genéticos por serem eles codominantes, multialélicos e possuírem alto nível de detecção de polimorfismo nas amostras, importantes para os estudos de diversidade e mapeamento genético. Mas também possuem algumas desvantagens, como o custo e a necessidade de técnicas para seu desenvolvimento.

Figura 3.2 | Sequências repetidas em tandem (marcadores microssatélites – SSR) no genoma de um indivíduo da espécie *Pinus caribaea*

GACTGTGGAAGTTTTAAGATACACTAGGATTAATTCTCCTAGAGA
GAGAGAGTATGGTGTACCTGTCTTTGAGACTCAAGTTTAAACGCT
CTGTATTTACTCCTTACTATTGTAATGATTATGTAATAATAATAATA
ATAATAATACTATTATCTTGTGAACTGTGTACTGTTTTCAAATCCTA
TGATCCTAGGCTTCGGTCTGATTATGTATCGGACAAATGGGTTTG
TTTCGGTCTG

Fonte: elaborada pelo autor.

Dessa forma, a biotecnologia integra a genética molecular com a propagação clonal, cruzamentos, diversidade genética, seleção de indivíduos superiores etc. Embora a seleção por características fenotípicas tenha contribuído de forma expressiva para o melhoramento florestal, as técnicas biotecnológicas vieram somar ao melhoramento genético clássico, permitindo a obtenção de genótipos com maior produtividade e qualidade.

Exemplificando

Se avaliarmos o diâmetro à altura do peito (DAP) de várias progênies de uma população de *Eucalyptus grandis*, verificaremos que elas possuem diferentes diâmetros. Mesmo os DAPs sendo diferentes, não se pode afirmar que há realmente variabilidade genética nessa população. Por isso, através da genotipagem dos indivíduos com o uso de marcadores moleculares microssatélites, por exemplo, é possível detectar se existe variabilidade genética entre as progênies, avaliando as sequências genômicas, e inferir sobre o parentesco e a diversidade genética entre os indivíduos analisados.

Sequenciamento

O sequenciamento de DNA é o processo que identifica a ordem dos nucleotídeos (A, C, T, G) dentro do DNA de uma amostra a ser analisada. O sequenciamento do eucalipto, por exemplo, identificou cerca de 640 milhões de pares de bases que compõem os 11 cromossomos. Conhecer a sequência de bases dos genes é extremamente importante, pois nos fornecerá informações sobre a estrutura, função e relação evolutiva de um mesmo organismo ou de organismos diferentes. Um exemplo seria a detecção de variabilidade gênica existente em uma espécie ou entre espécies. A evolução de duas espécies (*Eucalyptus grandis* e *E. urophylla*), quando comparadas, permite identificar as sequências que possuem papéis funcionais na estrutura proteica e na regulação gênica e, assim, se tem sido mantida inalterada ao longo de um período evolucionário. Além disso, é a estratégia mais valiosa para o aumento da produtividade de forma sustentável e ecologicamente equilibrada.

Há três tipos de geração para realizar o sequenciamento:

1ª geração: método químico (Maxam Gilbert), que utiliza o tratamento com substâncias químicas que "cortam" a molécula de DNA em nucleotídeos específicos.

2ª geração: método enzimático (Frederick Sanger), que utiliza a síntese enzimática de uma fita complementar, cujo crescimento é interrompido pela adição de um dideoxinucleotídeo.

Essas duas primeiras são consideradas sequenciamento manual.

3ª geração: nova geração, que utiliza vários métodos, dependendo de cada empresa. As novas tecnologias de sequenciamento são realizadas por plataformas robotizadas, e cada empresa possui a sua. Essas plataformas começaram a ser comercializadas a partir de 2005 e estão evoluindo muito rápido. Todas promovem o sequenciamento de DNA gerando informações de milhares de pares de bases em uma única corrida. Entre as plataformas de sequenciamento, as mais utilizadas são: 454 FLX da Roche, Solexa da Illumina, Applied Biosystems, denominada SOLiD System, e o HeliscopeTrue Single Molecule Sequencing (tSMS) da Helicos.

Pesquise mais

Este vídeo elucida minuciosamente o que é sequenciamento de DNA, como ocorrem todos os processos envolvidos, entre outras informações.

CEADUFPI. **Videoaula biologia molecular** - Prof. Leomá Matos, 2014. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=cmS8XMwzDXk>. Acesso em: 10 out. 2016.

Mapeamento genético

Mapeamento genético é o estudo feito para localizar os genes de interesse na sequência gênica dos cromossomos. Os genes estudados são responsáveis por algumas características desejáveis, ou não, dos organismos vivos. Com o mapeamento, também é possível detectar as distâncias genéticas.

Isso só foi possível porque Sturtevant e Morgan, a partir de 1910, trabalhando com *Drosophila melanogaster*, observaram distorções da segunda lei de Mendel. Morgan sugeriu que alguns genes estariam situados no mesmo cromossomo e que, durante a meiose, ocasionalmente, ocorreriam, entre os cromossomos homólogos, trocas de segmentos em um processo denominado crossing-over ou permuta. Os mapas mostravam que a posição dos genes correspondia à sua ordem linear nos cromossomos. Logo o mapeamento genético se tornou uma ferramenta poderosa para os geneticistas e melhoristas.

Para construir um mapa genético, é necessário utilizar marcadores neutros, altamente polimórficos, cuja herança não sofra influência ambiental, aliada a procedimentos estatísticos complexos, pois a premissa básica é a análise de segregação independente, ou seja, o número de gametas diferentes gerados por um indivíduo. E, para a construção desses mapas, há vários programas disponíveis na internet.

Dessa forma, uma das aplicações mais importantes dos mapas genéticos é a localização de genes que controlam características de importância econômica, como altura de planta, diâmetro à altura do peito (DAP), e resistência a doenças, que decorrem da ação cumulativa de um conjunto de genes. Essas características são

denominadas poligênicas, quantitativas ou de herança complexa, e os locos que as controlam são chamados de QTLs.

Pesquise mais

Carneiro e Vieira (2002) fazem uma revisão que aborda as premissas básicas utilizadas para o mapeamento genético e suas principais aplicações, especialmente para o melhoramento vegetal. Leia o artigo e aprofunde o seu conhecimento sobre o mapeamento genético.

CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Mapa genético em plantas. **Bragantia**. Campinas, v. 61, n. 2, p. 89-100, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/brag/v61n2/18469.pdf>. Acesso em: 10 out. 2016.

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos básicos desta disciplina, vamos relembrar a situação apresentada no início desta seção?

Você está acompanhando e trabalhando junto com os pesquisadores melhoristas em um projeto na busca da diversidade e mapeamento genético de plantas *Eucalyptus urophylla* conservadas *ex situ*, por isso, serão utilizados marcadores moleculares microssatélites com o objetivo de encontrar regiões genômicas que controlem características de interesse, como o diâmetro à altura do peito (DAP).

Para montar a primeira etapa do seu roteiro de apresentação dos conhecimentos adquiridos durante o projeto, você deve abordar como a biotecnologia pode auxiliar no melhoramento genético de tal espécie florestal, respondendo a alguns questionamentos. Vamos, então, respondê-los pontualmente. A primeira pergunta foi: "O que são marcadores microssatélites e como podem auxiliar no melhoramento da espécie estudada?". Inclua no documento de seu relato que marcadores microssatélites são sequências de 1 a 5 nucleotídeos repetidos em tandem dispersos em todo o genoma eucarioto. Ressalte que os pesquisadores da empresa escolheram esses marcadores para trabalhar com as plantas de *Eucalyptus urophylla*, pois eles possuem mais conteúdo de informações de polimorfismo e também são muito mais frequentes e distribuídos ao acaso, permitindo, assim, uma cobertura mais completa do genoma e proporcionando o mapeamento genético da espécie.

Para responder ao segundo questionamento, "Qual a importância de realizar o sequenciamento de DNA de *Eucalyptus urophylla*?", ressalte que o sequenciamento de DNA vai identificar a ordem exata dos nucleotídeos (A, C, T, G) no genoma de um indivíduo da espécie e que conhecer essa sequência de bases nucleotídicas dos genes é extremamente importante, pois fornecerá informações sobre a estrutura, função e

relação evolutiva entre as progênies de *Eucalyptus urophylla* e entre outras espécies. Será possível, também, analisar se há variabilidade genética nessas progênies, pois, se houver, pode-se iniciar a seleção dos indivíduos com características desejáveis, visando ao aumento da produtividade de celulose e papel a partir do incremento do diâmetro à altura do peito (DAP).

Respondendo à última pergunta, "Como o mapeamento genético auxilia no melhoramento da espécie em estudo?", ressalte que o mapeamento genético vai localizar os genes de interesse responsáveis pela expressão do DAP, que é a característica estudada. Além disso, é possível detectar as distâncias genéticas entre esses genes.

A característica selecionada no estudo é considerada poligênica, quantitativa ou de herança complexa, e os locos que a controlam são chamados de QTLs. Portanto, quando os melhoristas conseguem detectar esses locos, a seleção da característica eleita é muito mais rápida quando comparada ao melhoramento clássico ou convencional, pois todas essas ferramentas empregadas fazem parte da biotecnologia, que vieram para auxiliar o melhoramento, facilitando e diminuindo o tempo dos estudos.

Avançando na prática

A biotecnologia como uma ferramenta importante no melhoramento genético florestal

Descrição da situação-problema

Caro aluno, para realizar o seu trabalho de conclusão de curso (TCC), você vai acompanhar a pesquisa de um doutorando. Ele vai estudar uma população, *ex situ*, de *Eucalyptus grandis*, formada por progênies de três locais (Austrália, Timor Leste e Estados Unidos), e avaliará se há variabilidade genética dentro dessa população (entre indivíduos) por meio de análises genéticas, utilizando marcadores moleculares microssatélites. Os professores da sua banca vão lhe perguntar por que o aluno de doutorado utilizou os marcadores microssatélites e por que não fez o melhoramento genético clássico. Como você responderia a eles?

Resolução da situação-problema

A escolha pelo uso dos marcadores moleculares microssatélites foi motivada pelo fato desses serem mais frequentes e distribuídos aleatoriamente no DNA, permitindo uma cobertura mais completa do genoma e, principalmente, por apresentarem alto

grau de polimorfismo, já que o objetivo do estudo é avaliar a variabilidade genética.

O estudante de doutorado não fez uso do melhoramento genético clássico porque atualmente há outras várias ferramentas que auxiliam na seleção, além do tempo que levaria para concluir os estudos do melhoramento. Mas é válido ressaltar que a seleção por características fenotípicas contribuiu de forma expressiva para o melhoramento florestal. Como tudo evolui, também evoluíram as técnicas biotecnológicas, que só vieram a somar ao melhoramento genético clássico, permitindo maior variabilidade genética e obtenção de genótipos mais produtivos e de melhor qualidade.

Faça valer a pena

1. Os grandes avanços realizados a partir de 1990 na área da genômica favoreceram um desenvolvimento tecnológico de muita importância no campo da biologia. A inovação e solidificação de técnicas que fazem parte da análise genômica tornaram possível o sequenciamento do genoma de várias espécies de plantas, animais e seres humanos. Os estudos, através da genômica, têm proporcionado a comparação de organizações gênicas conservadas e genomas de diferentes organismos. Desse modo, os dados gerados pelo sequenciamento de um genoma, embora expressivos, são limitados, sendo primordial a integração com outras técnicas que permitam estudar tanto os processos de transcrição dos genes quanto a tradução das proteínas. Assim, teve início uma nova etapa na pesquisa biológica em larga escala, conhecida como "era pós-genômica", o que proporcionou o desenvolvimento de novas técnicas para o estudo de transcritos de mRNA, proteínas e metabólitos, integradas pela bioinformática. As análises comparativas de genomas procarióticos têm nos mostrado a complexidade da estrutura e organização dos genomas e a enorme diversidade genética entre os organismos, muito acima daquela esperada, mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie. Portanto, a genômica elucida o genoma de um organismo e também o papel dos genes que o compõem, desde o ponto de vista estrutural e funcional.

De acordo com o texto, qual alternativa complementa a frase a seguir: A genômica abrange muita informação e está dividida em três partes, funcional, _____ e _____.

a) transcriptômica / estrutural.

b) proteômica / comparativa.

c) estrutural / comparativa.

d) sequenciamento de DNA / mapeamento genético.

e) mapeamento genético / proteômica.

2. Com o surgimento das técnicas de marcadores de DNA, foi possível detectar variação genética adicional, o que gerou grandes avanços para o melhoramento genético de plantas. A principal colaboração que as técnicas trouxeram foi a possibilidade de analisar mais a essência do genótipo de um indivíduo, não necessitando avaliar a expressão fenotípica e, consequentemente, excluindo a influência do ambiente. O uso de descritores baseados no genótipo do indivíduo tem recebido atenção especial para a caracterização de cultivares, devido ao potencial de distinguir vários genótipos morfologicamente correlatos e geneticamente aparentados. A utilização da tecnologia de marcadores moleculares nos programas de melhoramento genético de plantas auxiliou no processo seletivo por meio da busca de alelos desejáveis indiretamente através do uso de marcadores ligados, sendo essa seleção conhecida como seleção assistida por marcadores moleculares (SAM). Como estratégia para selecionar caracteres desejáveis e complexos, a seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) é uma das ferramentas do melhoramento mais utilizada, pois reduz muito o tempo da pesquisa.

Assim, pode-se afirmar que:

I - Marcadores moleculares são sequências de DNA que vão informar se existe polimorfismo.

II - O melhoramento genético clássico consegue obter mais rapidamente plantas superiores.

III - Os marcadores moleculares vão tentar detectar locos controladores de caracteres quantitativos (QTLs).

Sabe-se que os marcadores moleculares têm sido muito utilizados. Dessa forma, é correto afirmar que:

a) As afirmações I e II estão corretas, e a afirmação III está errada.

b) As afirmações II e III estão corretas, e a afirmação I está errada.

c) As afirmações I e III estão corretas e a afirmação II está errada.

d) As afirmações I, II e III estão corretas.

e) As afirmações I, II e III estão erradas.

3. O sequenciamento de DNA é o processo que identifica a ordem dos nucleotídeos (A, C, T, G) dentro de uma amostra de uma espécie. No caso do projeto genoma humano, por exemplo, foi identificada a ordem exata de 3 bilhões de pares de bases que constituem o DNA dos 24 cromossomos.

Com base no texto apresentado, por que é importante conhecer a sequência das bases nos genes?

a) A sequência detectará a distância dos genes.

b) A sequência fornecerá respostas sobre regulação genética.

c) A sequência detectará respostas evolutivas somente dentro de uma espécie.

d) A sequência fornecerá informações sobre a estrutura, a função e a relação evolutiva dos genes.

e) Conhecer a sequência das bases dos genes só é importante para o melhoramento florestal.

Seção 3.2

Recursos genéticos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Na seção anterior, vimos como a biotecnologia atua no melhoramento genético florestal. Com o intuito de continuarmos aplicando os conceitos relacionados à biotecnologia, nesta seção iremos estudar sobre os recursos genéticos no melhoramento, com o objetivo de integrar estes conhecimentos.

Relembrando a situação apresentada no início desta unidade, uma das suas responsabilidades como trainee da empresa de melhoramento foi a construção de um relato de aprendizagem, cuja primeira etapa foi realizada. Nela, você discorreu sobre (i) o que são marcadores microssatélites e como eles podem auxiliar no melhoramento de *Eucalyptus urophylla* conservadas *ex situ* no campo, (ii) a importância do sequenciamento de DNA dessa espécie e (iii) como o mapeamento genético auxilia no seu melhoramento. Agora, o projeto com o eucalipto avançou e você realizará a segunda etapa de seu relato de aprendizagem: como a diversidade genética está relacionada com o melhoramento dessa espécie.

Em uma conversa com os pesquisadores, você foi informado que as plantas da espécie estudada foram plantadas há alguns anos e que a área de plantio, antes disso, estava bem degradada e necessitava de recuperação. A empresa, na época, aproveitou alguns indivíduos de *Eucalyptus urophylla* que estavam plantados em outras áreas e selecionou algumas progênies superiores para recuperar a área degradada. E agora contam com você para ajudá-los na avaliação da diversidade genética dessas plantas conservadas *ex situ*, por meio de marcadores microssatélites. Assim que finalizar a avaliação da diversidade dessa população, você precisará responder: como a diversidade genética auxilia no melhoramento genético da espécie estudada? Por que consideramos que as progênies de *Eucalyptus urophylla* estão conservadas *ex situ*? Por que é importante conhecer o centro de origem da espécie que se pretende melhorar?

Essas questões serão discutidas e respondidas mais adiante. Mas, primeiramente, vamos à busca de mais conhecimento e respostas. Para que isso ocorra, abordaremos a diversidade genética, o centro de origem, a conservação *in situ* e *ex situ* e a tecnologia do DNA recombinante; você estará apto para compreender como o avanço tecnológico auxiliou na conservação e na melhoria dos recursos genéticos

Não pode faltar

Caro aluno, você se lembra o que são recursos genéticos? Pois bem, os recursos genéticos são definidos como uma parte da biodiversidade que possui uso comercial, ou não. Esses recursos são a base biológica da agricultura, que abrange a matéria-prima, vital à humanidade, ao trabalho dos melhoristas, e representam a principal forma de armazenar a variabilidade e a adaptação genética.

As aplicações dos recursos genéticos podem ter uso comercial, ou não. Em uso comercial, as empresas podem desenvolver enzimas para fins definidos, genes melhorados ou até nanomoléculas. Tudo isso é manejado na proteção de cultivares, no processamento industrial, no desenvolvimento de medicamentos e na produção de produtos químicos. É possível, também, a inserção de genes em cultivares para obter características desejáveis que possam melhorar sua produtividade e resistência às pragas, por exemplo. Já para o uso não comercial, os recursos genéticos podem ser empregados a fim de aumentar o conhecimento e o entendimento do universo da biodiversidade dos próprios recursos, de sua manutenção e de suas possíveis aplicações no mercado. Tudo isso é realizado com pesquisas taxonômicas, análise de ecossistemas, diversidade e estrutura genética etc. Essas pesquisas, geralmente, são feitas por universidades e institutos públicos de pesquisa.

Dessa forma, o desenvolvimento acelerado da biotecnologia moderna nos proporcionou o uso dos recursos genéticos de uma forma que modificou profundamente o nosso entendimento do mundo vivo e também nos despertou para o desenvolvimento de novos produtos e processos, que vão desde medicamentos essenciais até métodos que melhoraram a nossa segurança alimentar. Além disso, permitiram que os métodos de conservação contribuíssem para preservar a biodiversidade. Dessa forma, é necessário, então, conservar a variabilidade biológica para benefício das gerações presentes e futuras.

Baseando-se nisso, diversidade genética é a quantidade total de variações genéticas observada entre populações de uma espécie, como também dentro de uma população, entre seus indivíduos (Figura 3.3). A diversidade genética de populações arbóreas pode ser identificada pelo uso de estimativas por caracteres quantitativos, avaliados em testes de procedência e progênies, e com base em dados de marcadores genéticos, pois, para maior eficiência de programas de melhoramento, os marcadores moleculares podem ser utilizados buscando-se proporcionar o aumento na eficiência de seleção, melhor caracterização do germoplasma e maximização dos ganhos genéticos.

Vocabulário

Marcador genético é qualquer característica morfológica ou molecular que diferencie indivíduos e que seja facilmente detectável. Já o marcador morfológico é um fenótipo de fácil detecção, geralmente determinado por um único alelo. As características fenotípicas são utilizadas como marcadores morfológicos desde Mendel como fenótipos de fácil identificação visual.

A diversidade genética intrapopulacional pode ser caracterizada pelos índices de porcentagem de locos polimórficos (*P*, se os locos possuem variação), heterozigosidade esperada em equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e, indica a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto em um loco de acordo com suas frequências alélicas), heterozigosidade observada (H_O, é o número de heterozigotos em um determinado loco dividido pelo número total de indivíduos amostrados), número médio de alelos por loco (*A*) e índice de fixação (*F*, é o índice de fixação de WRIGHT ou o coeficiente de endogamia estimado com base na heterozigosidade observada e esperada). Assim, para que ocorra uma conservação genética e/ou a exploração consciente de uma espécie, deve-se estudar como a variação genética ocorre entre e dentro das populações da espécie estudada, bem como o entendimento dessa variação no tempo e no espaço.

Figura 3.3 | Diversidade genética em uma população de *Eucalyptus urophylla*

Fonte: elaborada pelo autor.

Assimile

Quanto maior o número de alelos, maior a probabilidade de um heterozigoto ser amostrado (maior é o valor de H_e). Quanto mais equilibrada é a frequência dos alelos, maior será o valor de H_e.

Centro de origem

É de suma importância para o melhorista saber a área geográfica na qual a espécie foi originada (Figura 3.4). Há também o centro de diversidade, que é a região geográfica onde as plantas domesticadas se espalharam, a partir dos centros nucleares, e também onde outras culturas surgiram, tanto por seleção consciente quanto natural, além de ser o local onde há grande diversidade genética da espécie cultivada e espécies relacionadas. Antigamente, o centro de origem era definido como centro de diversidade, erroneamente, pois pode acontecer de o centro de origem de uma espécie desaparecer, por migração, interferência humana, entre outros. Além desses centros, existem outros dois para auxiliar no entendimento, como os centros nucleares, que são os locais onde a agricultura teve início, e os centros secundários, locais onde a variação genética continuou a aumentar depois da domesticação e onde poucas plantas cultivadas tiveram origem, não mais que duas, por exemplo, Brasil – Paraguai (mandioca, abacaxi, amendoim, cacau). Além disso, a denominação de centros secundários também foi realizada para definir que o centro de diversidade da cultura não corresponde ao seu centro de origem.

O botânico russo Nikolai Ivanovich Vavilov, entre 1920 e 1930, estudou a diversidade genética das plantas cultivadas ao redor do mundo e, também, de seus descendentes silvestres. Ele definiu que, durante a dispersão das espécies cultivadas, a partir do seu local de origem, essas se dividiram em grupos morfológicos, ecológicos e geográficos. Além disso, observou que em certas áreas do mundo havia maior diversidade de plantas cultivadas do que em outras, ou seja, os centros de diversidade genética correspondem aos centros de origem das cultivadas. Ele propôs que as plantas no planeta fossem divididas em dez centros de origem, sendo: 1) Centro chinês; 2) Centro indiano; 3) Centro asiático central; 4) Centro asiático menor; 5) Centro Mediterrâneo; 6) Centro Etiópia; 7) Centro América Central; 8a) Centro América do Sul (peruano – boliviano – equatoriano); 8b) Centro América do Sul (Chiloé); 8c) Centro América do Sul (brasileiro – paraguaio).

Figura 3.4 | Centro de origem de alguns gêneros de arbóreas e cereais

Fonte: adaptado de <https://pt.wikipedia.org/wiki/Continente>. Acesso em: 12 jan. 2017.

Exemplificando

O gênero *Eucalyptus* possui como seu centro de origem a Austrália, entretanto sua ocorrência não se restringe a esse local; ela ocorre naturalmente, também, na Nova Guiné e na Indonésia. No seu centro de origem, há mais de seiscentas espécies.

Todos esses conhecimentos são fundamentais para a conservação dos recursos genéticos que, consequentemente, garante a manutenção dos níveis de diversidade genética e a sobrevivência das espécies.

Conservação *in situ* e *ex situ*

Vimos o quão é importante a conservação dos recursos genéticos. A conservação *in situ* de recursos genéticos busca a preservação de espécies de populações naturais. Esse método objetiva não só a conservação de indivíduos das espécies de interesse, mas também a preservação dos *habitats* onde as espécies ocorrem naturalmente, de modo a garantir a manutenção das interações entre os organismos e os processos evolutivos envolvidos. A estratégia de conservação *in situ* é a de preservar a biodiversidade das espécies e do *habitat*, já que estão fragmentados. A seleção de espécies-alvo para fazer parte de um programa de conservação *in situ* depende do interesse do pesquisador, sendo necessário analisar o grau de ameaça, o uso atual ou potencial, a importância econômica e o risco de erosão genética, ou seja, a redução da diversidade genética das espécies vegetais. Muitas vezes, a conservação *in situ* é feita em unidades de conservação, geralmente na forma de parques e reservas, acrescidas de áreas sob outras categorias de manejo, sem interferência humana.

Já a conservação *ex situ* é a proteção de espécies, ou suas partes, fora do ambiente natural, em virtude de o ambiente não ser mais capaz de sustentá-los ou para uso do material em pesquisa. São estratégias da conservação *ex situ* optar por medidas de recuperação e regeneração de espécies ameaçadas e sua reintrodução em seu *habitat* em condições adequadas. Esse tipo de conservação proporciona, ainda, a manutenção de genes ou complexos de genes em condições artificiais, fora do seu *habitat*, podendo ser realizada por meio de coleções permanentes de pólen, coleções de plantas mantidas em campo, sementes ou culturas de tecidos, de acordo com as características da espécie e a disponibilidade de recursos materiais e humanos, sendo encontrados, geralmente, em zoológicos, bancos de germoplasma, aquários e jardins botânicos.

Reflita

Imaginemos um experimento em blocos ao acaso com 1500 progênies de *Pinus elliottii* conservadas em um banco de germoplasma a campo, instalado em Dourados-MS. Qual é o método de conservação dessas progênies?

Tecnologia do DNA recombinante

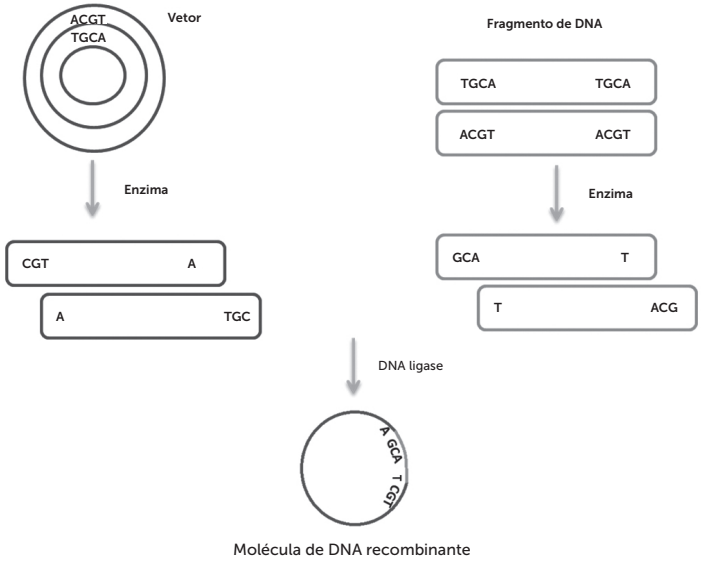
O DNA era a estrutura celular mais difícil de ser analisada até meados da década de 1970, porém, com o advento de novas tecnologias desenvolvidas, permitiu-se o isolamento e a purificação de genes específicos num processo chamado de clonagem gênica. Dessa forma, o DNA se tornou a molécula mais fácil de ser analisada, sendo real o isolamento de regiões específicas e a sua multiplicação em quantidade, o que desencadeou os estudos na determinação da sequência de milhares de nucleotídeos.

A tecnologia do DNA recombinante, como se convencionou denominar esse conjunto de técnicas, possui diversas aplicações, podendo ser utilizada para estudar mecanismos de replicação e expressão gênica, determinação da sequência de um gene específico ou de interesse e, consequentemente, da proteína que ele codifica. Além disso, também é possível determinar parte desse gene ou de uma região do genoma o desenvolvimento de culturas microbianas capazes de produzir substâncias de interesse, como a insulina humana, enzimas industriais e vacinas, em larga escala.

Em suma, a aplicação comercial da tecnologia do DNA recombinante possui um potencial gigantesco. Hoje, é possível utilizá-la na investigação de paternidade, no diagnóstico de doenças genéticas, transgenia, correções de defeitos genéticos em organismos complexos, entre outros.

A técnica central da metodologia do DNA recombinante é a clonagem molecular, sendo o isolamento e a propagação de moléculas de DNA idênticas. A clonagem molecular consiste em, pelo menos, dois estágios primordiais. Primeiro, o fragmento do DNA de interesse, chamado de inserto, é ligado a uma outra molécula de DNA, chamada de vetor, para formar o que chamamos de DNA recombinante. Segundo, a molécula do DNA recombinante é introduzida em uma célula hospedeira compatível, em um processo chamado de transformação. A célula hospedeira que adquiriu a molécula do DNA recombinante é agora chamada de transformante ou célula transformada (Figura 3.5).

Figura 3.5 | Construção da molécula de DNA recombinante a partir do vetor com um fragmento de DNA



Fonte: elaborada pelo autor.

O início da biotecnologia na área florestal concentrava-se, principalmente, em melhorar as plantações florestais, combatendo biologicamente as pragas, na introdução de resistência a doenças, entre outros. Hoje, já estuda-se, por exemplo, como microrganismos que causam danos à madeira das árvores podem auxiliar em seu combate. As enzimas dos fungos que apodrecem madeiras são estudadas para que seja compreendida a sua produção e como poderiam ser utilizadas para degradação de compostos lignocelulósicos, pois, na década de 1990, os avanços na produção de árvores com menor teor de lignina cresceram, sendo essa a principal linha de pesquisa de ponta até o momento no Brasil.

Portanto, o conhecimento sobre os níveis de diversidade genética existente em um pomar de sementes, em banco de germoplasma e até em coleções *in situ* e *ex situ* é o ponto de partida de qualquer programa de melhoramento genético.

Pesquise mais

Esse livro é muito interessante, pois aborda a história e a importância da biotecnologia e dos transgênicos, entre outras ferramentas, na cultura do *Eucalyptus*.

ZANONI, M.; FERMENT, G. **Transgênicos para quem?** Agricultura, Ciência e Sociedade/ Magda Zanoni; Gilles Ferment (Org.); Brasília: MDA, 2011. 538 p. Disponível em: < http://aspta.org.br/wp-content/uploads/2011/06/Transgenicos_para_quem.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2016.

Sem medo de errar

Caro aluno, agora que vimos os conteúdos básicos desta disciplina, vamos relembrar a situação apresentada no início desta seção?

Você está acompanhando os pesquisadores melhoristas em um projeto. Eles irão avaliar a diversidade genética das plantas de *Eucalyptus urophylla* conservadas *ex situ* no campo por meio de marcadores moleculares microssatélites.

Para montar a segunda parte do relatório de apresentação dos conhecimentos adquiridos durante o projeto, você deve abordar a diversidade genética relacionada ao melhoramento florestal. Para isso, você precisará responder a outras três questões, que iremos discutir uma a uma. A primeira questão é: "Como a diversidade genética auxilia no melhoramento genético da espécie estudada?". A diversidade genética é a quantidade total de variações genéticas observadas entre populações de uma espécie como também dentro de uma população entre seus indivíduos, podendo ser identificada pelo uso de estimativas por caracteres quantitativos, avaliados em testes de procedências e progênies, e com base em dados de marcadores genéticos. Se houver diversidade genética entre as progênies estudadas de eucalipto, por exemplo, os melhoristas poderão selecionar as progênies superiores, baseando-se no critério diâmetro à altura do peito, por meio dos marcadores microssatélites. Se não há diversidade genética, as progênies não possuem potencial para seleção. Assim, o estudo da diversidade genética dessa e de outras populações é o ponto de partida para qualquer programa de melhoramento. Portanto, ressalte isso em seu relato.

A segunda consideração que deve ser incluída em seu documento responde à seguinte pergunta: "Por que consideramos que as progênies de *Eucalyptus urophylla* estão conservadas *ex situ*?". Você deve saber que as progênies estão conservadas *ex situ* por não estarem no ambiente natural de sua ocorrência. Como vimos, há um tempo essas progênies foram plantadas com o intuito de recuperar uma área degradada da empresa e, agora, os pesquisadores irão avaliar se existe diversidade genética nessa população e, se houver, posteriormente, poderão ser selecionados os indivíduos superiores para que sejam utilizados no melhoramento. Dessa forma, a empresa está utilizando o material para pesquisa e também na recuperação de uma área degradada.

E, para finalizar o seu relatório, devemos responder à pergunta: "Por que é importante conhecer o centro de origem da espécie que se pretende melhorar?". O centro de origem é onde se encontra, geograficamente, grande parte da variabilidade genética de uma espécie, e isso, para o melhorista, é fundamental, pois, com a evolução natural das espécies e o melhoramento realizado nelas, juntamente com a engenharia genética, às vezes, deve-se retornar ao local de origem para aumentar a variabilidade genética da espécie. Pode acontecer, ainda, a extinção de uma determinada espécie

em um determinado local, mas, se as plantas silvestres existem no seu centro de origem, nem tudo foi perdido, e tal espécie não foi extinta por completo, o que seria uma perda sem tamanho. No caso da espécie em estudo, o centro de origem é a Indonésia e o Timor Leste.

Portanto, o estudo da diversidade genética é o ponto crucial para dar início a um programa de melhoramento genético e conservação.

Avançando na prática

A importância da conservação dos recursos genéticos

Descrição da situação-problema

Agora, aluno, você participará de um congresso da área florestal e deverá apresentar o seu trabalho em forma de pôster. Você avaliou uma população de *Pinus caribaea* de um horto florestal no Sul do País, conservada *in situ*, com o objetivo de analisar a diversidade genética. Como resultado, detectou que há alta diversidade genética na população. Assim, os avaliadores lhe fizeram três perguntas: 1) O que é conservação *in situ*? 2) Por que estudar a diversidade genética dessa população? 3) Qual a importância de conservar essa população?

Resolução da situação-problema

Para responder à primeira pergunta, "o que é conservação *in situ*?", você precisa definir o que é conservação *in situ*, ou seja, a conservação *in situ* pressupõe que os recursos genéticos estejam mantidos no ambiente em que se acham adaptados e dentro da comunidade a qual pertencem. A conservação *in situ* será bem mais eficiente se as tecnologias de extrativismo e de manejo forem adequadas.

Para responder à segunda questão, "por que estudar a diversidade genética dessa população?", você precisa compreender que a diversidade genética aponta a variação genética mantida dentro da população estudada e também verifica se houve evolução e como ela está mantida. A diversidade também pode auxiliar na identificação de genótipos superiores e contrastantes, o que permitirá avaliar o potencial para seleção de determinados indivíduos e possíveis cruzamentos promissores.

Com relação à terceira questão, "qual a importância de conservar essa população?", você precisará abordar a importância da conservação *in situ*. Por essa espécie ser arbórea, possuir grande porte e ocupar muito espaço físico, é interessante a sua manutenção em tal local. A conservação *in situ* da população protegida no horto é importante para a manutenção da diversidade genética da população e proteção do

ecossistema, por preservar as interações ecológicas e evolutivas entre as espécies ali existentes. Também foi verificado que há diversidade genética na população estudada.

Os recursos genéticos possuem diversos potenciais e devem ser estudados para que seja realizada a melhor conservação. Além disso, é necessário, sempre, pensarmos que esses recursos deverão ser úteis para as gerações futuras, de maneira sustentável.

Portanto, as discussões de estudos sobre a conservação de recursos genéticos florestais devem estar sempre em destaque em eventos científicos, pois englobam a proteção, manutenção e o equilíbrio ambiental do planeta.

Faça valer a pena

1. A cultura do gênero *Eucalyptus* ganhou muita importância econômica no Brasil e no mundo por possuir rápido crescimento e produção de madeira, além da própria multiplicidade de usos e empregos de suas diferentes espécies, citando ainda a expressiva área de florestas implantadas existentes. Em se tratando de Brasil, as florestas plantadas com o gênero *Eucalyptus* merecem destaque no setor florestal, pois a silvicultura atingiu altos níveis de desenvolvimento tecnológico, com destaque para o melhoramento genético, que proporcionou ganhos de grande relevância, principalmente na produtividade volumétrica. Muitas empresas florestais particulares que trabalham com o melhoramento de espécies do gênero *Eucalyptus*, geralmente, estão associadas às indústrias de papel e celulose, de móveis, siderúrgicas, dentre outras. O Brasil é o detentor de uma das maiores coleções de germoplasma e de um dos mais avançados programas de melhoramento genético de *Eucalyptus* do mundo. Isso aumenta o compromisso dos melhoristas florestais para conservar tais coleções genéticas, de maneira que garanta o sucesso dos programas de melhoramento e a conservação genética em longo prazo. Em um estudo, quantificaram e compararam com locos microssatélites os níveis de diversidade genética em populações de *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, situadas em uma área do estado de Mato Grosso do Sul. Aproximadamente 100 árvores foram amostradas e mapeadas em cada população, sendo essas populações naturais.

Com base no texto apresentado, o estudo da diversidade genética é fundamental para o melhoramento florestal. Qual das alternativas representa o conceito de diversidade genética?

a) Refere-se a toda variação biológica hereditária acumulada durante o processo evolutivo.

b) Refere-se à dinâmica dos genes nas populações.

c) Refere-se à preservação de espécies de populações naturais.

d) Refere-se à proteção de espécies ou suas partes fora do ambiente natural.

e) Refere-se à manutenção das interações entre os organismos e os processos evolutivos envolvidos.

2. Os ecossistemas naturais são considerados fontes gigantescas de recursos genéticos atuais e potenciais para a humanidade e podem ser considerados fonte direta de produtos, além de produzirem outros serviços. Os recursos genéticos de plantas são unidades de variabilidade herdáveis que têm valor presente e futuro, devendo ser manejadas de tal forma que possam, tanto no presente quanto no futuro, produzir outras gerações utilizáveis. Desse modo, a conservação de recursos genéticos refere-se à utilização racional de recursos para um número máximo de pessoas e por um tempo maior. Um aspecto primordial que possibilitou grandes discussões voltadas à conservação genética *in situ* foi a publicação de inúmeros trabalhos, a partir de 1960, sobre a teoria da biogeografia de ilha e do refúgio do Pleistoceno, o que gerou informações significativas que resultaram em uma melhor compreensão da conservação do "pool" de genes de uma maneira muito ampla. Existe uma diferença entre a conservação da natureza e a conservação genética. A conservação da natureza visa à proteção das áreas que representam habitat e comunidades que podem ser identificados. Já a conservação genética vai além, pois engloba as diferenças genéticas no material conservado, que podem, frequentemente, ser supostos, mas não identificados.

Dessa forma, a conservação dos recursos genéticos é fundamental para a manutenção do ser humano. Portanto, qual das alternativas melhor complementa a frase: "A conservação *in situ* pressupõe que os recursos genéticos estejam _____ ambiente em que se acham _____ e _____ da comunidade a qual pertencem"?

a) mantidos no / adaptados / fora

b) fora do / em outros locais / fora

c) mantidos no / adaptados / dentro

d) fora do / não estão adaptados / dentro

e) fora do / em outros locais / dentro

3. As plantas hoje cultivadas se originaram de ancestrais selvagens em locais atualmente conhecidos como "centros de origem", que são áreas geográficas específicas e mais ou menos restritas. O conceito dos centros de origem foi proposto pela primeira vez pelo cientista russo Nikolai Ivanovich Vavilov (1887-1943). Esse cientista, em suas explorações,

observou a diversidade das culturas e concluiu que a sua concentração era em torno de regiões específicas. Vavilov observou que em certas áreas do mundo concentram-se a maior diversidade genética das espécies cultivadas, identificando diferentes centros, sendo, alguns, subdivididos: 1) China, 2) Índia, 2a) Indo - malaio, 3) Ásia Central, 4) Oriente Próximo, 5) Mediterrâneo, 6) África Oriental, 7) Mesoamérica, 8) América do Sul, 8a) Chile, 8b) Brasileiro – paraguaio. As observações de Vavilov permitiram que fosse identificado que esses centros estão separados geograficamente por desertos, planícies ou montanhas, e que ocorrem em áreas onde houve o desenvolvimento independente de civilizações agrícolas. Vavilov propôs que são nos centros de origem que ocorrem a maior diversidade genética das espécies, e por muito tempo isso foi aceito. Entretanto, esse conceito é discutido, pois nem sempre o centro de origem coincide com o centro de maior diversidade genética de uma espécie, e também pode acontecer de o centro de origem de uma espécie desaparecer, por migração, interferência humana, entre outros.

Como visto no texto apresentado, o centro de origem já foi conceituado como centro de diversidade. Dessa forma, há outros tipos de centros para nos auxiliar na compreensão da origem e cultivo das plantas. Sendo assim, qual das alternativas corresponde aos tipos de centros existentes?

a) Centros de diversidade, centros genéticos, centros de cultivo, centros de origem.

b) Centros de cultivo, centros de origem, centros nucleares, centros centrais.

c) Centros nucleares, centros de cultivo, centros de origem, centros secundários.

d) Centros de origem, centros nucleares, centros de diversidade, centros secundários.

e) Centros secundários, centros silvestres, centros de diversidade, centros de origem.

Seção 3.3

Sistemas reprodutivos das plantas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Chegamos à última seção desta unidade. Nós já estudamos sobre a biotecnologia no melhoramento genético florestal e também a importância dos recursos genéticos para um programa de melhoramento. Iremos estudar os sistemas reprodutivos das plantas e abordaremos os tópicos: reprodução assexuada, autógamas, alógamas e biologia floral. Ao final desta seção, você estará apto para compreender os tipos de reprodução das plantas e como eles, juntamente com os recursos genéticos e a biotecnologia, estão integrados ao melhoramento genético florestal.

Considerando ainda as suas responsabilidades como trainee na empresa de melhoramento florestal voltada para a produção de papel e celulose, você e os melhoristas têm investigado a variabilidade genética e o mapeamento genético das plantas de *Eucalyptus urophylla* conservadas *ex situ*, na busca por incremento no DAP (diâmetro à altura do peito). Você já realizou as duas primeiras etapas do seu relato científico e agora finalizará o documento escrevendo sobre a importância em conhecer o sistema reprodutivo da espécie para o melhoramento.

Nesse sentido, considere que no setor florestal brasileiro tem se intensificado o uso de pomares de polinização controlada como estratégia nos programas de melhoramento da espécie, principalmente por fornecer sementes com valor genético para instalação de futuros testes de progênies e auxiliar na obtenção de clones e, consequentemente, por diminuir o tempo de uma geração de melhoramento para outra. Além disso, através dos pomares, é possível obter a recombinação de genes presentes nos indivíduos superiores, selecionados para a obtenção de híbridos. Entretanto, como descrito anteriormente, o pomar de polinização deve ser controlado, para que não haja contaminação de pólen de árvores não selecionadas.

Agora, você irá acompanhar os pesquisadores da empresa que irão estudar a dinâmica de polinização do E. *urophylla* e sua reprodução e, ao final, você entregará o seu relatório constando a importância de conhecer o sistema reprodutivo da espécie em estudo para o melhoramento florestal. A fim de o auxiliar a discorrer sobre esse tema, você deve responder: como a espécie em estudo se reproduz? Para o melhoramento da espécie, qual tipo de reprodução deve ser utilizado? Como é a

biologia floral, resumidamente, do gênero *Eucalyptus*?

Para responder a esses questionamentos, você deve compreender que o conhecimento do sistema reprodutivo das plantas é fundamental para programas de melhoramento genético florestal, que as plantas se reproduzem por via assexual e sexual e, também, que a biologia floral está correlacionada com o ambiente em que se encontram, além das estratégias de polinização.

Não pode faltar

Os estudos de biologia reprodutiva são necessários para o entendimento do sistema reprodutivo das plantas e para a compreensão da espécie como um todo. Dessa forma, existem dois modos de reprodução de plantas: sexual e assexual.

A reprodução sexual caracteriza-se pela formação de gametas por meiose, fusão dos gametas masculino e feminino (fertilização) para a formação de um embrião contido no interior da semente. Já na reprodução assexual ou vegetativa, novas plantas são formadas através de órgãos vegetativos especializados, sendo a mais utilizada no cultivo de plantas, principalmente por garantir a manutenção, ao longo das gerações, de características comercialmente importantes. Agora, veremos um pouco mais de cada tipo de reprodução das plantas, a seguir:

Reprodução assexuada: nesse tipo de reprodução, não ocorre a fusão dos gametas. Portanto, as novas plantas são obtidas pela divisão celular (mitose), por meio de vários órgãos vegetativos, sendo raízes (cenoura), estolões, tubérculos (batata-inglesa), manivas (mandioca), colmos (cana-de-açúcar), rizomas (orquídeas), estacas (boldo), rebentos (bananeira), borbulhas (limão), ou por cultura de tecidos (eucalipto).

Há algumas formas de reprodução assexuada, como a apomixia, que ocorre em algumas espécies em que as sementes são produzidas sem que antes tenha ocorrido a fertilização, tendo como resultado sementes que são geneticamente idênticas à planta-mãe. A apomixia é frequentemente associada à poliploidia, embora possa ocorrer em espécies diploides, por exemplo, em *Citrus*. A apomixia pode ser facultativa ou obrigatória. Na apomixia facultativa, a planta produz descendentes, tanto de origem sexual como de origem apomítica. É o caso das mangueiras, por exemplo. Na apomixia obrigatória, não existe a reprodução sexual, como no alho. Sendo assim, a apomixia em programas de melhoramento pode ser utilizada para fixar genótipos superiores, principalmente em espécies poliploides (indivíduos que possuem vários genomas).

Outra forma é a reprodução vegetativa de uma única planta, a partir um clone (Figura 3.6). As plantas propagadas vegetativamente são caracterizadas pelo alto grau de heterozigose (quando o indivíduo possui em seu genoma alelos diferentes, resultado da combinação dos pais) e, quando propagadas por via sexual, sua progênie

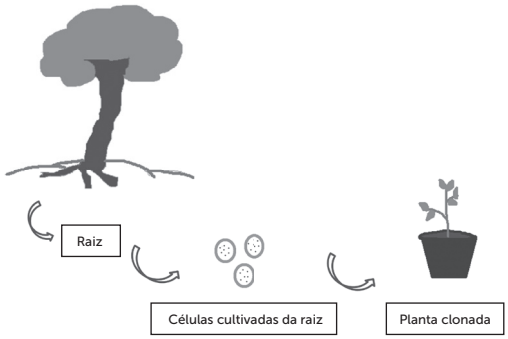
apresenta alta segregação.

De maneira geral, o melhoramento de espécies propagadas vegetativamente é mais simples do que o melhoramento de espécies de reproduçãosexuadas. Isso porque melhoramento das espécies propagadas vegetativamente visa obter clones superiores que, quando selecionados, podem ser multiplicados vegetativamente, tornando-se uma nova variedade. Podemos fazer a seleção de clones superiores em progênies vindas de cruzamentos (que possuem alta segregação, ou seja, quando vários caráteres são determinados por um par de genes que se separam na formação dos gametas) ou por meio de propagação de mutantes, que podem aparecer naturalmente. Quando os melhoristas trabalham com espécies que se reproduzem naturalmente, almejando algum caráter específico em menos tempo, dispensam a reprodução natural e utilizam a técnica de clonagem, como uma árvore de eucalipto proveniente de sementes, que leva cerca de cinco anos para atingir a altura média de 25 metros, entretanto, se melhorarem o caráter altura e produzirem mudas clonais da planta melhorada, as mudas poderão atingir a altura média de 25 metros em apenas três anos e meio. Sendo assim, os pesquisadores optam pela técnica, devido à facilidade de manejo, aumento de produtividade e maior sustentabilidade de produção.

Exemplificando

Um exemplo de mutação natural que se tornou uma variedade muito utilizada é o caso da uva rubi, que tem casca com coloração rosada, e foi selecionada de uma mutação natural que ocorreu na uva Itália (que possui casca verde/amarelada).

Figura 3.6 | Esquema simples de clonagem em plantas

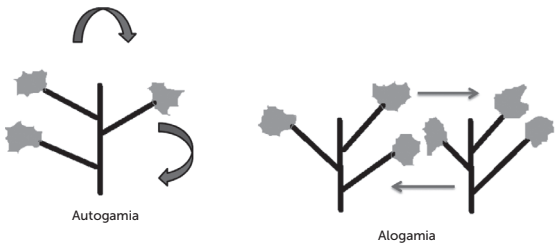


Fonte: elaborada pelo autor.

Reprodução sexuada: as plantas que se formam por meio da reprodução sexuada podem ser classificadas em autógamas, intermediárias (alógamas intermediárias) e alógamas.

- Autógamas: as plantas autógamas são aquelas que realizam, preferencialmente, a autofecundação (em mais de 95% dos casos), essas estão representadas na Figura 3.7 (A). A autofecundação ocorre quando o pólen (gameta masculino) fertiliza um óvulo (gameta feminino) da mesma planta. Embora possuam preferência pela autofecundação, pode ocorrer uma baixa taxa de fecundação cruzada nessas espécies. Isso dependerá da população de polinizadores (pássaros, insetos etc.), umidade, vento, temperatura, altitude, outros fatores.

Figura 3.7 | Esquema de reprodução de plantas autógamas (A) e alógamas (B)



Fonte: elaborada pelo autor.

As plantas autógamas são caracterizadas pela homozigose, ou seja, quando os alelos são iguais e produzem apenas um tipo de gameta (uma vez que, em cada geração de autofecundação, a proporção esperada de indivíduos heterozigotos é reduzida pela metade), por uma ou várias linhas puras ou linhagens puras. A sete sangrias (a *Cuphea aperta*, utilizada na medicina popular) e a leucena (*Leucaena leucocephala*, utilizada, principalmente, na produção de forragem e adubação verde) são espécies autógamas. Além dessas, há também as plantas anuais de importância econômica, como a cevada, o trigo, o tomate, o arroz e o feijão. As plantas autógamas possuem maior porcentagem de ocorrência de autofecundação devido a mecanismos desenvolvidos com a evolução das espécies. Por exemplo, na soja ocorre a cleistogamia, processo em que a polinização do estigma ocorre antes da abertura do botão floral ou antese.

- Alógamas: são plantas que realizam, preferencialmente, a polinização cruzada (em mais de 95% dos casos), representadas na Figura 3.7 (B). Desse modo, a fertilização ocorre quando o pólen de uma planta fertiliza o óvulo da flor de uma outra planta. As espécies alógamas são caracterizadas pela heterozigose, apresentando endogamia (cruzamento de indivíduos com certo grau de parentesco) e heterose (ou vigor híbrido, fenômeno pelo qual os filhos provenientes de cruzamentos apresentam melhor desempenho quando comparados à média de seus pais). Dependendo do tipo de flor que possuem, as espécies alógamas são divididas em três grupos: 1) Plantas com flores hermafroditas: quando a flor é completa, possuindo os dois sexos, como a castanheira-do-brasil e o eucalipto; 2) Plantas monoicas: quando em uma única planta são encontradas flores unissexuais femininas e masculinas, como a seringueira; 3) Plantas dioicas: são plantas com flores masculinas e plantas com flores femininas, como a araucária, que depende exclusivamente do vento (anemocoria) para o transporte dos grãos de pólen de uma árvore para outra para que ocorra a fertilização,

portanto, para a polinização cruzada.

As espécies pertencentes ao gênero *Eucalyptus*, por exemplo, são preferencialmente alógamas, mas podem apresentar um sistema reprodutivo misto, ou seja, com ocorrência de até 30% de autogamia (quando ocorre a fecundação de uma flor por seu próprio pólen, devido, principalmente, aos diferentes estágios de maturação que as flores apresentam na mesma planta). Outra espécie de arbórea alógama, mas que atinge 100% de fecundação cruzada, é a castanheira–do-brasil.

As plantas alógamas também desenvolveram mecanismos que incentivam a reprodução cruzada. Um desses mecanismos é a dicogamia, ou seja, em espécies hermafroditas o amadurecimento das flores, tanto femininas como masculinas, acontece em momentos diferentes. A dicogamia é dividida em protandria e protoginia. A protandria sucede quando as anteras têm os grãos de pólen maduros, mas os estigmas não estão receptivos, como ocorre no *Eucalyptus urophylla*. Já a protoginia acontece quando os estigmas estão receptivos, mas as anteras não completaram o amadurecimento, como ocorre na pinha. Outros mecanismos são as barreiras mecânicas, que se manifestam quando a flor apresenta algum bloqueio que impede a fecundação do grão de pólen na própria flor. A fecundação somente irá ocorrer se a barreira for rompida por insetos polinizadores que trazem pólen de outras plantas. A monoicia (separação na mesma planta das inflorescências femininas e masculinas) é também um mecanismo de incentivo à alogamia.

Outras espécies de plantas também desenvolveram mecanismos que determinam a alogamia, como a dioicia, quando há flores masculinas numa planta e flores femininas em outra, sendo inviável a autofecundação, como ocorre na araucária. A autoincompatibilidade é outro mecanismo que ocorre quando há uma interação entre o grão de pólen e o estigma, impossibilitando que o pólen germine no estigma da mesma planta. Outro mecanismo é a macho-esterilidade, que é a incapacidade de uma planta em produzir pólen funcional, sendo muito importante em programas de melhoramento de plantas, principalmente na produção de sementes híbridas.

Assimile

Plantas autógamas praticam autofecundação natural (> 95%) e plantas alógamas, polinização cruzada (> 95%). Um exemplo de alógama com flores hermafroditas é a castanheira-do-brasil, que chega a atingir 100% de fecundação cruzada, tendo como polinizador a abelha. Por outro lado, na espécie *Leucaena leucocephala*, uma leguminosa perene autógama, observamos uma taxa de cruzamento abaixo de 2%.

Biologia floral: conhecer a biologia floral de uma espécie é muito importante, pois ela pode nos auxiliar no entendimento das relações entre as plantas e o ambiente em que vivem, além das estratégias de polinização e mecanismos reprodutivos. Sendo

assim, a biologia floral integra o estudo de todas as manifestações de vida da flor, inclusive a ecologia de polinização e fertilização. Os eventos fenológicos estudados na biologia floral abrangem seis fases da floração e frutificação, que são:

- Fase 1 – Botões florais: a fase de botões florais compreende desde o surgimento dos botões florais até o início da antese (abertura das flores).

- Fase 2 – Floração: a fase de floração, ou da antese floral, é considerada, geralmente, a partir do momento que a maioria das flores está se abrindo nas inflorescências, passando pela fase de expansão completa, até a fase em que, aparentemente, já ocorreu a liberação do pólen (nesta fase as anteras estão escurecendo e os estames estão começando a murchar).

- Fase 3 – Senescência: nessa fase, as flores ou as inflorescências apresentam aparência descolorada e os estames já murcharam e estão escurecidos.

- Fase 4 – Formação dos frutos: nesta fase, é possível visualizar a olho nu o início da formação dos frutos, conhecida por frutos imaturos, que surgem nos receptáculos florais.

- Fase 5 – Maturação dos frutos: nessa fase, os frutos apresentam seu tamanho final, com mudança de coloração. Ainda não apresentam indícios de abertura.

- Fase 6 – Final da deiscência: a parte final do período reprodutivo, ou seja, fase em que as sementes já foram disseminadas e alguns frutos continuam aderidos ao pedúnculo, conservando-se, às vezes, até a época do novo período reprodutivo.

É essencial na biologia floral o estudo da dispersão de frutos e sementes, pois as plantas, com isso, conseguem alcançar novos locais para cumprir seu. Portanto, o conhecimento das principais estratégias devem ser analisados caso a caso. As principais estratégias de dispersão ou síndrome de dispersão de frutos e sementes utilizadas pelas plantas estão classificadas em:

- Autocoria: é a dispersão por mecanismos da própria planta, que lança suas sementes ao seu redor por algum mecanismo particular ou simplesmente libera as sementes diretamente no solo. Essa dispersão possui a barocoria ou por gravidade, e barocórica ou explosiva. Exemplo: *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) e *Eucalyptus sp*.

- Anemocoria ou dispersão pelo vento: os frutos são secos e deiscentes, com sementes pequenas e leves. Normalmente, apresentam estruturas aerodinâmicas que auxiliam o voo, sendo denominadas sementes aladas. Algumas plantas anemocóricas perdem todas as folhas no período de dispersão. Exemplos: *Eucalyptus urophylla*, *Pinus caribaea*, *Araucaria angustifolia*, *Handroanthus albus* (ipê-amarelo), *Myracroduon urundeuva* (aroeira) e *Zeyheria tuberculosa* (ipê-felpudo).

- Hidrocoria ou dispersão pela água: diz respeito a frutos com boa capacidade de flutuação e resistência ao meio aquático. Ocorre com plantas de sistemas alagados ou próximas a cursos de água doce ou salgada. Exemplos: *Inga sessilis* (ingá-ferradura) e *Salix humboldtiana* (salgueiro). Em florestas inundáveis, também pode ocorrer a ictiocoria, ou dispersão por peixes. Exemplos: *Genipa americana* (jenipapeiro) e *Sebastiania commersoniana* (branquilho).

- Zoocoria ou dispersão por animais: trata-se da dispersão realizada por animais. As relações de dispersão podem ser de três tipos. A endozoocoria é um deles; ela ocorre quando a dispersão se faz por meio da ingestão e posterior liberação do diásporo (podendo ser sementes, frutos, a planta inteira ou parte dela, ou ainda a combinação desses elementos); a sinzoocoria transcorre quando os diásporos são deliberadamente carregados, principalmente na boca do animal; e a epizoocoria acontece quando os diásporos são carregados acidentalmente. Exemplos: *Copaifera langsdorfii* (bálsamo), *Cordia sellowiana* (cordia-pequena) e *Bertholletia excelsa* (castanheira-do-brasil).

- Artiodactilocoria ou dispersão por ungulados: geralmente, esse tipo de dispersão ocorre por meio do processo de ruminação ou por transporte para outro local intermediado por esses agentes. Exemplos: *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril) e *Cassia grandis* (cássia-gigante).

- Chiropterocoria ou dispersão por morcegos: os morcegos frugívoros desempenham papel fundamental na dispersão de várias plantas tropicais e subtropicais. Exemplo: na dispersão de *Calophyllum brasiliense* (guanandi). Eles são excelentes dispersores de sementes, pois possuem habilidade de transportar frutos a longas distâncias da planta-mãe. Muitas espécies de morcegos atuam como dispersores de plantas dos estágios primários e secundários de sucessão, que promovem alta diversidade em algumas áreas devido à presença desses animais.

- Ornitocoria ou dispersão pelas aves: os pássaros possuem olfato pouco eficiente, mas visualizam os frutos maduros pela coloração forte, sendo esse o principal sentido das aves. Desse modo, os frutos roxos e vermelhos são os seus prediletos, mas elas podem vir a consumir frutos amarelos ou até mesmo verdes. Exemplo: *Ilex paraguariensis* (erva-mate) e *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha).

- Primatocoria ou dispersão por primatas: um exemplo é o papel do macaco bugio, que faz a dispersão de *Schefflera morototoni* (caixeta), e os macacos prego e cairara, de *Bertholletia excelsa* (castanheira-do-brasil).

- Mirmecoria ou dispersão por formigas: são exemplos o *Prunus brasiliensis* (pessegueiro-bravo) e a *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha).

Pesquise mais

No artigo citado a seguir, você poderá aprender um pouco mais sobre a biologia floral, o sistema reprodutivo e a polinização da espécie conhecida popularmente por sete-patacas-roxa. Foram estudadas a fenologia reprodutiva, a biologia floral e a polinização da espécie, uma *Apocynaceae* endêmica da Caatinga.

ARAÚJO, L. D. A.; QUIRINO, Z. G. M.; MACHADO, I. C. Fenologia reprodutiva, biologia floral e polinização de Allamanda blanchetti, uma Apocynaceae endêmica da Caatinga. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 2, p. 211-222, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042011000200008>. Acesso em: 14 nov. 2016.

Reflita

Vimos que as plantas autógamas são caracterizadas por uma ou várias linhagens puras. Desse modo, o que seriam linhagens puras?

Sem medo de errar

Prezado aluno, agora que vimos os conteúdos básicos desta disciplina, vamos relembrar a situação apresentada no início desta seção? Você irá acompanhar os pesquisadores da empresa que irão estudar a dinâmica de polinização no E. *urophylla* e sua reprodução e, ao final, você entregará o seu relatório constando, na terceira etapa, a importância de conhecer o sistema reprodutivo da espécie em estudo para o melhoramento florestal. Para lhe auxiliar a discorrer sobre esse tema, você deve responder: (I) Como a espécie em estudo se reproduz? (II) Para o melhoramento da espécie, qual tipo de reprodução deve ser utilizado? (III) Como é a biologia floral, resumidamente, do gênero *Eucalyptus*?

Dessa forma, para abordar como o *Eucalyptus urophylla* se reproduz e como é o sistema reprodutivo, primeiramente, você deverá recordar que há, apenas, dois tipos de reprodução: sexual ou assexual.

Respondendo aos dois primeiros questionamentos, você deve ressaltar no seu documento que, no caso da espécie em estudo e pensando no melhoramento genético, é importante levar em conta para o projeto da empresa a reprodução assexual, embora a planta seja alógama, ou seja, realiza naturalmente a polinização cruzada. No caso da espécie estudada, a alogamia é favorecida pela protandria (os grãos de pólen são viáveis antes de o estigma se tornar receptivo).

No melhoramento de *Eucalyptus urophylla*, é utilizada a reprodução assexual, pois é comum o uso de clones superiores decorrentes de testes durante o processo de seleção dos melhores indivíduos, objetivando a qualidade da madeira, em que, consequentemente, esperam obter maior incremento no DAP (diâmetro à altura do peito), o que resultaria na maior produtividade de papel e celulose.

Outro conteúdo importante que precisa ser abordado é a biologia floral do gênero *Eucalyptus*, pois esse pode auxiliar o entendimento das relações das plantas no campo com o ambiente, além do conhecimento das estratégias de polinização e mecanismos reprodutivos da espécie em estudo. Esse gênero é constituído por flores hermafroditas agrupadas em forma de inflorescências, e a síndrome de dispersão é a autocoria (como vimos, na autocoria as plantas mães liberam as sementes que caem por gravidade próximas a elas). Logo, respondemos ao questionamento III.

Após abordar esses conteúdos, você deve concluir que, para escolher o melhor método de melhoramento, é fundamental conhecer o sistema reprodutivo das plantas, que possuem dois tipos de reprodução (sexual ou assexual). As espécies autógamas, alógamas e de reprodução vegetativa possuem diferentes estruturas genéticas e cada uma delas necessita de um método. Por exemplo, em plantas autógamas é possível utilizar a própria semente sempre pensando no final do processo de melhoramento genético, em que a homozigose deve ser restaurada. Já no melhoramento de plantas alógamas, como da espécie em estudo, deve-se utilizar a seleção dos melhores indivíduos provenientes do cruzamento de plantas superiores (explorando o vigor híbrido), clonando-as para instalar um plantio comercial.

Avançando na prática

A importância do estudo da biologia floral em castanheira-do-brasil

Descrição da situação-problema

Caro aluno, imagine que você irá apresentar seu trabalho de conclusão de curso a uma banca examinadora. Seu projeto foi um estudo sobre como a biologia floral da castanheira–do-brasil pode auxiliar no melhoramento genético da espécie. Para isso, você amostrou sessenta progênies localizadas em uma unidade de conservação no sudeste do Pará e utilizou tecido foliar para desenvolver marcadores microssatélites, especialmente desenvolvidos para avaliar o seu sistema reprodutivo. Após a apresentação, os avaliadores lhe fizeram três perguntas: 1) Como a castanheira-do-brasil se reproduz? 2) Qual a síndrome de dispersão que você observou? 3) Quais as principais características florais da espécie?

Resolução da situação-problema

As plantas possuem dois modos de reprodução: o sexual e o assexual. Quando a planta se reproduz pelo modo sexual, ela pode ser classificada como autógama, alógama intermediária e alógama. Neste caso, a castanheira-do-brasil é uma espécie alógama, que chega a atingir 100% de fecundação cruzada. Além disso, ressalte aos avaliadores que a espécie possui flores hermafroditas, ou seja, têm os dois sexos em uma mesma flor. Você também deve relembrar o projeto em que observou duas síndromes de dispersão para a castanheira-do-brasil: a zoocoria e a primatocoria. A zoocoria é a dispersão realizada por animais e a primatocoria é a dispersão realizada, especificamente, por primatas, sendo os macacos prego e cairara os responsáveis pela dispersão das sementes da castanheira-do-brasil.

Faça valer a pena

1. A ação antrópica nas formações florestais do Brasil tem gerado consequências importantes, principalmente em regiões onde há muita concentração populacional ou intensas atividades agrícolas, como no caso das áreas de domínio da Mata Atlântica, por exemplo, nas quais várias pesquisas identificaram uma gradativa e acentuada redução das populações das espécies que as compõem, tanto em área física quanto em tamanho genético. Esses resultados alertam para uma baixa confiabilidade na qualidade genética de sementes oriundas de matrizes nessas situações. Dessa forma, uma opção é a clonagem de diversos indivíduos (matrizes), de diferentes fragmentos, dispostos sob condições ideais de vegetação, pois, assim, podem formar uma nova população, recompondo os alelos perdidos durante a fragmentação, podendo, inclusive, ser uma fonte de fornecimento de sementes com qualidade genética devida, o que é essencial para a manutenção da variabilidade de espécies.

O texto apresentado relata que muitas regiões estão fragmentadas devido às ações antrópicas desencadeadas pelo homem, sendo necessários estudos de diversidade genética das espécies remanescentes desses locais para auxiliar de maneira eficaz a sua conservação. Um método de propagação de alta credibilidade em relação à qualidade genética é a clonagem. Dessa forma, qual das alternativas se refere melhor ao conceito de plantas autógamas?

a) As plantas autógamas realizam, preferencialmente, autofecundação abaixo de 95%.

b) As plantas autógamas realizam, naturalmente, fecundação cruzada acima de 95%.

c) As plantas autógamas são caracterizadas pela heterozigose.

d) As plantas autógamas realizam, naturalmente, autofecundação acima de 95%.

e) As plantas autógamas nunca realizam fecundação cruzada.

2. No século XX, em 1904, Edmundo Navarro de Andrade introduziu as primeiras espécies de eucalipto no Brasil, na Companhia Paulista de Estrada de Ferro, no Horto de Jundiaí do estado de São Paulo. A partir de então, foi dado início aos estudos com as procedências introduzidas. O plantio dessa espécie foi bastante promissor, pois forneceria, em tempo reduzido, combustível para a ferrovia e a madeira para postes e dormentes. Entre os anos de 1905-1915, Edmundo introduziu e avaliou 144 espécies do gênero *Eucalyptus* vindas da Austrália. Ele objetivou identificar as espécies mais promissoras. Todavia, os plantios não apresentaram boa qualidade, pois a madeira não foi satisfatória. Dessa forma, outro pesquisador, Carlos Arnaldo Krug, em 1941, iniciou, no Instituto Agronômico de Campinas (IAC), um programa de melhoramento genético do eucalipto para a Companhia Paulista de Estrada de Ferro, tendo como objetivos: melhorar a uniformidade das plantações; aumentar a produtividade; melhorara forma do tronco, o crescimento em altura e diâmetro das árvores, as características dos ramos; melhorar a capacidade de brotação; e reduzir o número de falhas nas plantações. Entretanto, mesmo o programa de Carlos Arnaldo Krug sendo um dos mais avançados para aquela época, falhou, pois as sementes de eucaliptos com melhor qualidade genética disponíveis para plantio eram provenientes de parcelas ou talhões desbastados, sendo contaminadas por pólens não desejáveis.

Como retratado no texto exposto, para realizar um programa de melhoramento genético florestal é necessário ser bem cuidadoso e criterioso para não perder tempo e dinheiro investido na pesquisa. Conhecer o sistema reprodutivo das espécies de eucalipto e de outras espécies é fundamental quando se almeja realizar a seleção de indivíduos com características desejáveis. Sabendo que o eucalipto se repoduz, naturalmente, por polinização cruzada, e que essa é considerada uma espécie alógama, qual das alternativas melhor representa o conceito de alógamas?

a) Plantas alógamas são caracterizadas pela heterozigose.

b) Plantas alógamas são as que realizam naturalmente autofecundação acima de 95%.

c) Plantas alógamas são caracterizadas por uma ou várias linhas puras.

d) Plantas alógamas são divididas em dois grupos, apenas: monoicas e dioicas.

e) Plantas alógamas desenvolveram um mecanismo denominado cleistogamia.

3. A castanheira-do-brasil ou castenheira-do-pará (*Bertholletia excelsa Bonpl.*) desenvolve-se em agrupamentos chamados castanhais, encontrados principalmente na Amazônia brasileira. Fora do Brasil, a espécie é encontrada na Bolívia, Colômbia, Guianas, Peru e Venezuela.

A metodologia para cultivar a espécie em larga escala foi desenvolvida por Müller e colaboradores na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, na década de 1980, sendo até hoje utilizada por alguns produtores. Há plantios de castanheira em Sistemas Agroflorestais (SAFs) e em áreas contínuas de monocultivo de larga escala. A discussão de como cultivar a espécie em relação à economia de plantio é atualmente muito discutida, pois existem várias formas, como o plantio em monocultivos, em SAFs ou na recomposição de Áreas de Preservação Permanente (APP) e de Reserva Legal. As plantas podem ser cultivadas em pé franco (enraizamento direto da estaca do cultivar produtor sem uso de porta-enxerto) ou com enxertia. Todavia, pouco se discute sobre a eficiência dos agentes polinizadores nesses sistemas, especialmente com relação à restrição da frutificação por falta de polinização adequada, já que a castanheira-do-brasil é uma espécie que depende da polinização cruzada para a formação dos frutos e sementes, e seus principais polinizadores são as abelhas dos gêneros *Bombus, Centris, Xylocopa, Eulaema, Eufriesea e Epicharis*, conhecidas como mamangavas. Desse modo, torna-se indispensável oferecer condições para que esses polinizadores estejam presentes nas áreas de cultivo.

O conhecimento sobre a biologia floral de uma espécie é muito importante, pois pode auxiliar o entendimento das relações entre as plantas e o ambiente em que vivem, além das estratégias de polinização e mecanismos reprodutivos, como pode ser visto no texto apresentado. Dessa forma, a biologia floral está englobada na ecologia da polinização, que abrange estudos da interação entre flores e seus agentes polinizadores. Nesse contexto, qual das alternativas apresenta, corretamente, uma estratégia de dispersão de frutos e sementes?

a) Anemocoria é a dispersão por animais.

b) Artiodactilocoria é a dispersão pelo vento.

c) Hidrocoria é a dispersão pelas aves.

d) Zoocoria é a dispersão por animais.

e) Ornitocoria é a dispersão pelos morcegos.

Referências

ALVES, A. A. **Herança e mapeamento genético da resistência à ferrugem (Puccinia psidii) em cruzamentos interespecíficos de Eucalyptus**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento)-Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008. Disponível em: <http://locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/4676/textocompleto.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 8 nov. 2016.

ARAÚJO, L. D. A.; QUIRINO, Z. G. M., MACHADO, I. C. Fenologia reprodutiva, biologia floral e polinização de Allamanda blanchetti uma Apocynaceae endêmica da Caatinga. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 2, p. 211-222, 2011.

BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução das plantas cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 914 p.

BARREIRA, S. **Diversidade genética em população natural de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish como base para o manejo florestal**. 2005. 61 f. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.

CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Mapa genético em plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 2, p. 89-100, 2002.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 149-164, 2010.

CARVALHO, M. C. C. G.; SILVA, D. C. G. Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 735-744, 2010.

CAVALCANTE, M. C.; OLIVEIRA, F.; MAUÉS, M. M.; FREITAS, B. M. Pollination requirements and the foraging behavior of potential pollinators of cultivated Brazil nut (Bertholletia excelsa Bonpl.) trees in Central Amazon Rainforest. **Psyche**: A Journal of Entomology, Article ID 978019, 2012.

CEADUFPI. **Video aula biologia molecular Prof. Leomá Matos**. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=cmS8XMwzDXk>. Acesso em: 10 out. 2016.

FOELKEL, C. Aplicações da Biotecnologia em Processos Industriais de Fabricação de Celulose de Eucalipto. **Eucalyptus online book e Newsletter**. Disponível em: <http://eucalyptus.com.br/eucaliptos/PT32_Biotecnologia_Celulose.pdf>. Acesso em: 22 out. 2016.

HOMMA, A. K. O; MENEZES, A. J. E. A.; MAUÉS, M. M. Castanheira-do-pará: os desafios do extrativismo para plantios agrícolas/Brazil nut tree: the challenges of extractivism for agricultural plantations. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. **Ciências Naturais**, Belém, v. 9, n. 2, p. 293-306, 2014.

MOURA, T. M. et al. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de Solanum spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites. **Scientia forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 82, p. 143-150, 2009. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr82/cap04.pdf>. Acesso em: 22 out. 2016.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

SIMON, M. F. **Manual de Curadores de Germoplasma**. Vegetal: Conservação in situ. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. Documento 322. 13 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355163/2005846/doc322.pdf/d0c78cea-2ebe-4f7e-8a33-438f62f87132>. Acesso em: 22 out. 2016.

SIQUEIRA, L. **Variabilidade genética de população selecionada e teste de paternidade de uma progênie de polinização aberta de *Eucalyptus grandis Hill* ex Maiden**. 2009. 40 f. Dissertação Mestrado)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

SOUZA, I. C. G. **Seleção e melhoramento em populações clonais de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. 2016. 71 f. Dissertação (Mestrado)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2016.

VEASEY, E. A. et al. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1218-1228, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n7/a4411cr4313.pdf>. Acesso em: 22 out. 2016.

ZANONI, M.; FERMENT, G. **Transgênicos para quem?** Agricultura, Ciência e Sociedade/Magda Zanoni; Gilles Ferment (Org.). Brasília: MDA, 2011. 538 p. Disponível em: <http://aspta.org.br/wp-content/uploads/2011/06/Transgenicos_para_quem.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2016.

Introdução aos métodos de melhoramento de plantas

Convite ao estudo

Prezado aluno, agora que já estudou os tipos de recursos genéticos vegetais e os princípios da genética quantitativa e da biotecnologia no melhoramento genético florestal, você estará apto, ao final desta unidade, para compreender e diferenciar os métodos de melhoramento de plantas. Iniciaremos a nossa quarta unidade, na qual estudaremos os métodos de melhoramento de espécies autógamas, alógamas e das espécies assexuadamente propagadas. Todos esses temas são fundamentais para que você compreenda como são realizados os programas de melhoramento genético em diferentes espécies de plantas.

Para que possa aplicar os conteúdos que serão aprendidos aqui, imagine que você foi contratado pela mesma empresa florestal em que estava atuando como trainee (Unidade 3). Eles gostaram do seu trabalho! Você agora compõe oficialmente o seleto grupo de pesquisadores melhoristas que estão trabalhando no melhoramento de um híbrido de *Eucalyptus* conservado *ex situ*. O seu trabalho continuará no mesmo projeto de pesquisa, cujas análises avançaram. Vocês começarão a buscar alternativas para melhorar as plantas mediante análise de metodologias de seleção. Entre as suas atribuições, está a responsabilidade de compilar e interpretar o conjunto de informações parciais dos experimentos, de ações e atividades que estão ou serão realizadas. Lembremos de que o objetivo da pesquisa continua sendo o de aumentar a produtividade de papel e celulose pelo incremento no DAP de árvores obtidas do retrocruzamento entre duas espécies de eucalipto, o *Eucalyptus grandis* e o *Eucalyptus urophylla*. Você acompanhará os diferentes métodos de seleção aplicados às plantas, a começar por aqueles aplicados às plantas autógamas.

Nesse sentido, deverá ser construído um relato relacionado aos métodos

de melhoramento, dividido em três etapas, que serão trabalhadas seção após seção, sendo elas: 1ª) Esboço sobre o método dos retrocruzamentos e análise de genitores; 2ª) Contribuição da seleção recorrente para o melhoramento da espécie e considerações sobre o desempenho do híbrido; 3ª) Propagação assexuada da espécie e influência do ambiente no desempenho de seus clones.

Você faz ideia do que se trata o método da população? E o método genealógico? Já ouviu algo sobre método descendente de uma única semente? Saberia discorrer a respeito da metodologia dos retrocruzamentos? Esta unidade é de grande importância para esta disciplina, já que finalizaremos os conteúdos que ajudarão você a entender o melhoramento florestal na prática, para que você consiga cumprir a sua tarefa na empresa de melhoramento em que está atuando como pesquisador melhorista. Vamos iniciar os estudos? Boa leitura!

Seção 4.1

Métodos de melhoramento de autógamas

Diálogo aberto

Caro aluno, vimos na última seção da unidade anterior os conhecimentos sobre a reprodução assexuada, plantas autógamas e alógamas. Também estudamos a biologia floral e o quão integrado estão os sistemas reprodutivos das plantas com o melhoramento florestal.

Entretanto, você já imaginou quais são as metodologias de seleção utilizadas pelos melhoristas nos programas de melhoramento genético de plantas? Para continuarmos a construção da nossa pirâmide de conhecimentos e introduzir os métodos aplicados no melhoramento de plantas, abordaremos inicialmente os métodos aplicados ao melhoramento de autógamas, os principais métodos, os conceitos, as vantagens e desvantagens da utilização de cada um deles.

Antes, você se lembra do "Convite ao estudo", apresentado inicialmente? Pois bem, vamos relembrar um pouco das suas funções na empresa de melhoramento florestal, na qual você está em um programa de melhoramento genético de um híbrido de *Eucalyptus* conservadas *ex situ*, objetivando o aumento da produtividade de papel e celulose pelo incremento no DAP.

Muito bem: imagine agora que você e sua equipe verificaram que o híbrido em estudo não está amplamente adaptado ao Brasil e, portanto, que a planta se desenvolve somente em condições ambientais do centro de origem de seus genitores, Indonésia e Timor Leste. Devido a isso, observaram que, diante da ocorrência de um novo fungo, algumas plantas se mostraram susceptíveis, resultando na morte dos tecidos da casca de seu tronco, colocando em risco a produtividade de papel e celulose. Vocês observaram também que a resistência à doença no genitor doador é condicionada por um alelo dominante, sendo recessivo no genitor recorrente. Por esse motivo, você e os demais pesquisadores terão de descobrir como, através do método de retrocruzamentos, poderiam livrar o híbrido desse novo patógeno e garantir a produtividade da empresa. O chefe do grupo solicita que você apresente uma ideia para resolução do problema na próxima semana, período em que você deverá entregar a primeira etapa do seu relatório semanal de atividades. Ele achou uma ótima ideia que você redigisse sobre os seguintes pontos: 1º De modo geral, como funciona o método de retrocruzamentos

e como ele pode ser útil para o problema observado com o híbrido de eucalipto? 2º Quem é o genitor recorrente e qual sua importância nesse melhoramento? 3º Como ocorre a transferência do gene de resistência ao novo fungo, causador da doença, para o híbrido de eucalipto?

Para conclusão dessa primeira parte, mediante resolução das questões apresentadas, abordaremos os métodos de seleção aplicados às espécies autógamas. É importante que você consiga distinguir os métodos de seleção e entenda como os retrocruzamentos são realizados, método esse aplicável tanto às espécies autógamas como às alógamas, como no caso da planta perene estudada. O entendimento do conhecimento apresentado nesta aula servirá para que você compreenda mais facilmente as próximas aulas desta unidade. Boa leitura!

Não pode faltar

Método da população

O método da população, também conhecido como *bulk* (do inglês "em massa"), trata-se do método mais simples de condução de gerações segregantes. Após a hibridação artificial entre linhagens parentais selecionadas que apresentam divergência genética, as plantas das gerações F_1 até F_5 são colhidas todas juntas, em *bulk*, sendo retirada uma amostra de sementes para dar origem à próxima geração (Figura 4.1). A seleção, determinada pelo meio ambiente, baseia-se na associação entre a competição dos indivíduos segregantes e a sua produtividade, buscando tirar vantagem da seleção natural em que seus indivíduos são submetidos à identificação de indivíduos superiores.

No Brasil, esse método foi muito utilizado no melhoramento do feijão, no qual o objetivo era avaliar como a competição dos indivíduos estava relacionada à habilidade de sobrevivência de cada genótipo em campo, observando se os indivíduos que produzem maior número de sementes viáveis tendem a contribuir mais para a constituição da próxima geração. Na Austrália, esse método é muito utilizado por pesquisadores quando vendem sementes de várias espécies de eucalipto, pois sempre estarão uma geração à frente dos compradores (as sementes usadas em cada geração são uma amostra colhida da geração anterior). Eles selecionam as melhores sementes, mas sem a identificação exata das progênies.

Entretanto, para que o melhorista consiga mais facilmente realizar a seleção dos melhores indivíduos com base no fenótipo desejável, sempre a próxima geração a ser conduzida é instalada em espaçamento maior e em ambiente que favoreça os indivíduos desejáveis ao melhoramento. As fileiras que apresentarem desuniformidade são descartadas e aquelas promissoras e uniformes para as características desejáveis são colhidas em *bulk* e avaliadas na sequência dos testes de produtividade:

1. EPL (ensaio preliminar de linhagem): primeiro teste comparativo de produtividade, em que as fileiras que se apresentarem promissoras e uniformes para as principais características desejáveis têm as sementes colhidas em *bulk*.

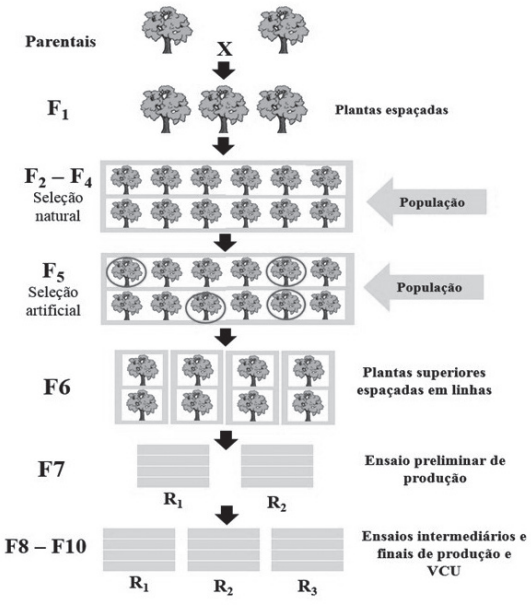
2. EIL (ensaio intermediário de avaliação de linhagens): avaliação mais rigorosa conduzida em duas ou três localidades, posterior à coleta dos dados e análise estatística das linhagens mais promissoras selecionadas para as mesmas características avaliadas no ensaio EPL.

3. EFL (ensaio final avaliação de linhagens): de modo semelhante, procede-se à análise estatística e a seleção das melhores linhagens, sendo conduzido em cinco ou mais localidades representativas da região a qual o futuro cultivar se destina.

4. VCU (Valor de cultivo e uso): posterior à avaliação das linhagens em testes comparativos de produtividade durante dois anos, em que as linhagens superiores podem ser registradas, protegidas e lançadas.

A condução do experimento deve ser realizada em condições semelhantes àquelas em que o cultivar obtido será plantado até alcançar o nível esperado de homozigose (população na qual os indivíduos serão praticamente homozigotos), o que é esperado que ocorra após 5 a 6 gerações de autofecundação. Além disso, é necessário que a amostragem seja bem-feita, para que alelos favoráveis ao melhoramento não sejam perdidos.

Figura 4.1 | Esquema do método da população



R significa bloco.
Fonte: elaborada pelo autor.

Esse método de seleção possui como principais vantagens o baixo custo de mão de obra na condução da população segregante, a possibilidade de associar-se a outros métodos de seleção e a condução de grande número de populações com facilidade, além de permitir a mecanização. No entanto, para a condução desse método é necessário testar um grande número de linhagens, tornando-se inadequado quando as sementes não forem o produto comercial, além da impossibilidade de condução de mais de uma geração por ano e em casas de vegetação, o que o torna muito demorado. Além disso, a população segregante obtida por esse método não pode ser usada para estudos de herdabilidade e, quando submetidos à seleção natural, ocorre a perda de alelos desejáveis.

Vocabulário

População segregante: geração na qual houve a disjunção dos cromossomos paternos e maternos na meiose, com a separação dos genes, promovendo, na próxima geração a ser produzida, a recombinação gênica.

Método genealógico

Também denominado método pedigree, esse método de seleção baseia-se na avaliação de cada progênie, separadamente (seleção individual de plantas) da população segregante. No teste de progênie, são avaliados os indivíduos selecionados através de análises de seu genótipo e fenótipo, diferente do que ocorre na seleção massal, que se baseia apenas no fenótipo das plantas selecionadas. Os novos cultivares obtidos em cada geração por meio desse método também são conduzidos em região e época de plantio representativas, em que serão cultivados.

O registro da genealogia de cada linha permite maximizar a eficiência da seleção do método, pois torna possível estabelecer o grau de parentesco entre as linhas selecionadas, determinando se os melhores indivíduos podem ter ancestrais em comum a uma ou duas gerações anteriores, e, portanto, a possibilidade de serem consideradas geneticamente semelhantes.

Como forma de possibilitar a avaliação individual das plantas, a geração F_2 é conduzida em experimento com espaçamento maior, para que sejam colhidas as sementes das plantas fenotipicamente selecionadas para a condução em fileira separada, visando à formação da geração F_3. A partir dessa geração, ou seja, a primeira após a hibridação, as linhas do experimento são obtidas pela seleção das melhores plantas individuais (progênies) em F_2. Nesse sentido, cada planta F_3 selecionada é conduzida em uma fileira na geração F_4 e, assim como feito anteriormente, as superiores em F_4 são submetidas à seleção individual. Portanto, observa-se nesse método que a seleção é feita nas melhores linhas e, dentro dessas, as melhores plantas, sendo

repetido o procedimento até que o nível de homozigose desejável seja alcançado. No entanto, observa-se que, no final da geração F_4, já é grande o número de progênies que expressam uniformemente os diversos caracteres morfológicos desejáveis.

Vocabulário

Hibridação: fusão de gametas geneticamente diferentes, que resulta em indivíduos híbridos heterozigóticos para um ou mais locos a serem analisados.

Da seleção da geração F_4 até F_{13}, deve-se analisar o comportamento das progênies, mas não mais de modo individual. As linhas promissoras e uniformes devem ser colhidas em massa e destinadas aos seus ensaios de produtividade, seguindo os mesmos critérios de "*bulk*".

Esse método de seleção possui como principais vantagens a necessidade de um menor número de linhagens puras para ensaios de competição, o controle do grau de parentesco entre as seleções e descarte de plantas inferiores em gerações precoces, além de permitir o treinamento de melhoristas. Em contrapartida, por permitir a condução de uma única geração por ano, além de poder ocasionar em perdas de genótipos superiores, torna-se um método demorado, além de exigir elevada mão de obra, com pessoas experientes à frente da condução do experimento.

Pesquise mais

Este material refere-se ao capítulo 6 de um trabalho desenvolvido por pesquisadores da UFPR. São abordados de modo detalhado as bases genéticas da seleção no melhoramento de plantas autógamas e os métodos de melhoramento de autógamas.

BESPALHOK, J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento de Plantas Autógamas por Seleção**. Disponível em: <http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%206.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2016.

Método descendente de uma única semente

Esse método de seleção, também conhecido como SSD (*Single Seed Descendent*), surgiu para substituir os métodos anteriormente descritos, principalmente por reduzir o tempo requerido para a obtenção das linhagens homozigóticas e por eliminar a seleção natural, estabelecendo a próxima geração com a utilização de apenas uma única semente de cada indivíduo da geração anterior.

Outra importante característica desse método é a possibilidade de obtenção de mais de uma geração por ano, devido ao fato de os processos de avaliação e seleção de genótipos só se iniciarem após a obtenção das linhagens homozigóticas e por ser possível a condução dos testes em casa de vegetação ou em ambientes marginais para o cultivo da espécie. Portanto, as populações segregantes não precisam ser conduzidas em ambiente similar àquele em que o futuro cultivar será plantado.

De modo geral, esse método inicia-se pela coleta aleatória de sementes na época de maturação de cada indivíduo de F_2, as quais são agrupadas para constituição da geração F_3. Esse procedimento é repetido até a constituição da geração F_5, na qual é executado o teste de progênie. Da geração F_7 à F_{13}, as progênies que se mostrarem uniformes e superiores são colhidas individualmente em bulk e avaliadas nos ensaios de produtividade comuns aos métodos anteriores, envolvendo EPL, EIL, EFL e VCU, antes de se decidir pelo lançamento de um novo cultivar.

Como principais vantagens da utilização desse método de seleção, existe a maior variabilidade genética devido ao fato de qualquer planta na população poder ser descendente de uma planta F_2 diferente, além da rapidez na obtenção do nível de homozigose desejável e da possibilidade de obtenção de mais de uma geração por ano. Adicionalmente, a genealogia das plantas não é avaliada, fato que promove a fácil condução do experimento fora da época de semeadura e da região de adaptação da espécie a ser melhorada. Além disso, não ocorre a ação da seleção natural, que poderia eliminar indivíduos desejáveis, e é fácil a condução de populações, por permitir grande número de cruzamentos. Esse método se torna interessante principalmente para regiões temperadas, em que não é possível fazer mais que uma safra por ano e não ocorrer perda por amostragem dos indivíduos F_2.

Entretanto, ao longo das gerações segregantes, a identidade das plantas F_2 é perdida, da mesma forma que, por esse método, são reduzidas as chances de seleção nas gerações precoces. Além disso, a seleção natural não beneficia a avaliação dos indivíduos a serem selecionados. Se ocorre a perda de um indivíduo, seja por doença, pragas ou déficit hídrico, isso irá acarretar na perda de variabilidade genética dentro de famílias.

Assimile

No método descendente de uma única semente (SSD), as populações segregantes obtidas podem ser conduzidas em casa de vegetação, não sendo necessária a condução em ambiente similar àquele em que o novo cultivar será plantado, como também orientado nos outros métodos de seleção.

Retrocruzamentos

Resumidamente, podemos dizer que o método de retrocruzamentos é aplicável tanto em espécies alógamas quanto em autógamas e que se baseia no cruzamento de um híbrido F_1 (gerado por dois cultivares) com o genitor recorrente em sucessivas gerações, de modo a obter uma nova versão do cultivar na qual a característica indesejável seja substituída por aquela do genitor doador. Por exemplo, têm-se os genitores **A** e **B**, em que o genitor **A** (**genitor doador**) participa apenas do cruzamento inicial e o genitor **B** (**genitor recorrente**) é utilizado nos sucessivos cruzamentos repetidos, ou seja, **A** x **B** => F1 x **B**. Para isso, o parental ou genitor recorrente utilizado nos cruzamentos, será aquele que possui as qualidades desejáveis comercialmente, mas que apresenta algum defeito numa característica qualitativa que precisa ser corrigida.

Um bom exemplo disso seria o caso em que um novo patótipo infecte uma cultivar amplamente aceita em uma determinada região e coloque em risco sua utilização pelos produtores. Através do método de retrocruzamentos, torna-se possível incorporar resistência à nova doença, isto é, melhorando a cultivar já existente, e não desenvolvendo uma nova, o que ocorreria se ela não tivesse sido anteriormente oferecida no mercado sem a resistência à nova doença.

A complexidade e o tempo investidos na condução de um programa de melhoramento genético dependerão do número de genes envolvidos, ou seja, se serão transferidas somente uma característica por vez ou mais. Quando são utilizadas várias características, torna-se necessária a amostragem de grandes populações, o que torna o método complexo. Após um número suficiente, as progênies serão heterozigotas para alelos em transferência e homozigotas para os demais e, após o último retrocruzamento, tornam-se necessárias duas gerações de autofecundação para atingir a homozigose.

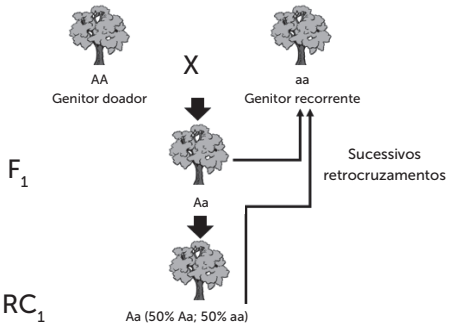
Vocabulário

Patótipo: são patógenos da mesma espécie com morfologia similar ou idêntica, mas com diferentes níveis de virulência.

A transferência de alelos é relativamente simples quando se trata do alelo dominante. Por exemplo, depois do cruzamento de dois genitores, sendo o genitor recorrente suscetível a uma doença bacteriana e o genitor doador o que apresenta o gene que confere resistência a essa doença, obtemos os híbridos F_1, que serão retrocruzados com o genitor recorrente, gerando indivíduos RC_1, que segregam os tipos Aa (resistentes à doença) e os recessivos aa (possíveis para a inoculação da doença e facilmente descartados), como na Figura 4.2. Esse procedimento pode ser repetido até que o nível de recuperação desejável do genitor recorrente seja atingido, sendo a progênie obtida do último retrocruzamento a partir do teste ao qual foi

submetida, mais precisamente com os indivíduos resistentes à doença, para identificar aqueles que não possuem o gene que confere resistência para descarte e utilização daqueles portadores da resistência, os quais serão multiplicados e distribuídos como nova versão do genitor recorrente.

Figura 4.2 | Transferência de um alelo dominante pelo método de retrocruzamentos



Fonte: elaborada pelo autor.

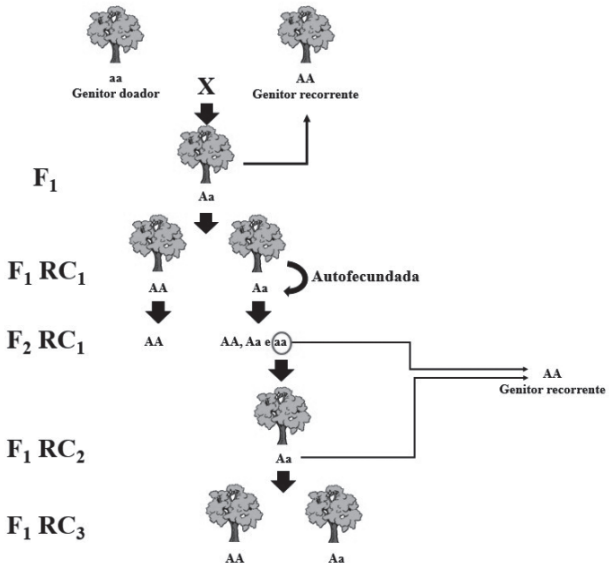
Exemplificando

Imagine que, na busca pela produção de árvores com maior crescimento, foi realizado o retrocruzamento do híbrido *Eucalyptus urograndis* com seus genitores, *E. urophylla* e *E. grandis*, obtendo resultados promissores.

Para a transferência de alelo recessivo, consideremos o mesmo exemplo descrito anteriormente. No entanto, consideraremos aqui que o gene de resistência do genitor doador seja o recessivo. Nesse caso, o tempo requerido para o desenvolvimento da nova versão do genitor recorrente é um pouco mais longo; por esse motivo, veremos por partes.

Inicialmente, dois genitores são cruzados e os híbridos F_1 obtidos são retrocruzados com o genitor recorrente gerando os indivíduos RC_1. Até essa etapa, todos os procedimentos são semelhantes ao anterior. Todos os indivíduos RC_1 (AA e Aa) apresentaram o mesmo fenótipo, ou seja, a susceptibilidade à doença (Figura 4.3). Esses serão submetidos a uma geração de autofecundação para que consigamos identificar os portadores dos alelos que conferem resistência à doença. Após a autofecundação, os indivíduos suscetíveis AA e Aa são descartados e os indivíduos resistentes aa são retrocruzados com o genitor recorrente (AA), gerando os indivíduos RC_2, com genótipo Aa. Tais indivíduos são diretamente retrocruzados com o genitor recorrente (AA), gerando os indivíduos RC_3, isto é, com genótipos AA e Aa. Esses procedimentos serão repetidos até que o nível de recuperação desejado do genitor recorrente seja atingido.

Figura 4.3 | Transferência de um alelo recessivo pelo método de retrocruzamentos



Fonte: elaborada pelo autor.

Reflita

Imaginemos que você esteja trabalhando na implantação do híbrido *Pinus elilliondurensis*, obtido do cruzamento do *Pinus elliottii Engelm* var. *elliottii* com o *Pinus caribaea Morelet* var. *hondurensis*, em um teste instalado em Curitiba-PR. Vamos supor que esse híbrido não esteja adaptado às condições ambientais da região e que um novo fungo causador do azulamento da madeira esteja colocando em risco a qualidade da madeira das árvores contaminadas. Considere que o *P. elliotti* seja o genitor portador do gene dominante que confere a resistência e o *P. caribaea* o genitor portador do gene recessivo, ou seja, susceptível à doença. Qual método de seleção você utilizaria para conferir resistência à doença ao híbrido?

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada no início?

Você, agora, compondo o grupo de melhoristas da mesma empresa florestal onde estava atuando como trainee, está trabalhando no melhoramento de um híbrido de *Eucalyptus* conservado *ex situ*, buscando alternativas para melhorar as plantas mediante análise de metodologias de seleção. Para montar a primeira etapa do relatório de apresentação dos seus conhecimentos adquiridos durante o projeto, você

deverá abordar o método de retrocruzamentos e analisar seus genitores tocando em alguns pontos específicos. Vamos, então, respondê-los pontualmente:

Com relação ao primeiro ponto: "De modo geral, como funciona o método dos retrocruzamentos e como ele pode ser útil para o problema observado com o híbrido de eucalipto?"; para responder, inclua no documento de seu relato que o método de retrocruzamentos se baseia no cruzamento de um indivíduo da geração F1 (gerado por dois cultivares puros) com o genitor recorrente em sucessivas gerações, de modo a obter uma nova versão do cultivar na qual a característica indesejável seja substituída por aquela transmitida pelo genitor doador. Você pode salientar que, no caso do híbrido de eucalipto, esse método de seleção é útil para transferir o gene dominante, condicionante da resistência à nova doença provocada pelo fungo causador da morte dos tecidos da casca do tronco das árvores, ocorrendo do genitor doador, portador da resistência ao híbrido, como forma de garantir a produtividade de papel e celulose da empresa.

Quanto ao segundo ponto: "Quem é o genitor recorrente e qual sua importância nesse melhoramento?", aqui sugerimos que procure ressaltar que o genitor recorrente é aquele com boas características, desejáveis comercialmente ao melhoramento, mas que apresenta algum defeito numa característica qualitativa que precisa ser corrigido. No problema relatado com o híbrido de eucalipto, é bom especificar que o genitor recorrente é aquele susceptível à doença causada pelo fungo, e que será retrocruzado com o híbrido de eucalipto obtido do cruzamento desse com o genitor doador portador da resistência, para identificar, entre os indivíduos segregantes obtidos, aqueles que não possuem o gene que confere a resistência, a fim de que sejam descartados. Já em relação àquelas progênies híbridas obtidas com a resistência transferida, seria interessante informar que essas serão multiplicadas e distribuídas como nova versão do genitor recorrente nos testes de progênies instalados em campo.

Respondendo à última pergunta: "Como nas plantas ocorre a transferência do gene de resistência ao novo fungo causador da doença no híbrido de eucalipto?", relate que, no problema apresentado com o híbrido de eucalipto, a transferência é do alelo dominante. Ressalte que o genitor doador é aquele que apresenta o gene que confere resistência à doença ao genitor recorrente suscetível. A partir do cruzamento dos dois genitores, são obtidos híbridos F_1, que serão retrocruzados com o genitor recorrente, gerando indivíduos RC_1, os quais segregaram os tipos Aa (resistentes à doença) e os recessivos aa, que são suscetíveis e serão descartados. Fortaleça que esse procedimento pode ser repetido até que o nível de recuperação desejável do genitor recorrente seja atingido.

Avançando na prática

Melhoramento genético de duas variedades do feijão-comum pelo método em *bulk*

Descrição da situação-problema

Prezado aluno, agora você participará de um congresso internacional de melhoramento de plantas e apresentará o seu trabalho em forma de pôster. Utilizando o método da população, você trabalhou no melhoramento genético de duas variedades (Pretão e Carioca) do feijão-comum *Phaseolus vulgaris* em três regiões o Brasil, nos estados de Santa Catarina (SC), Paraná (PR) e Minas Gerais (MG). Como resultado, você observou que a produtividade das variedades Carioca e Pretão foi maior em SC em comparação com MG e PR, respectivamente. Assim, os avaliadores do evento lhe fizeram três perguntas: 1) Por que se avaliou as variedades de feijão em diferentes localidades? 2) No melhoramento genético do feijão, o que o método da população avalia? 3) Qual a principal característica deste método de seleção?

Resolução da situação-problema

Para responder à primeira pergunta, "Por que se avaliou as variedades de feijão em diferentes localidades? ", você precisa discorrer que as variedades de feijão foram avaliadas em diferentes localidades, porque a seleção nesse método ocorre pelo meio ambiente, baseando-se na associação entre a competição dos indivíduos segregantes e a sua produtividade.

Para responder ao segundo questionamento, "No melhoramento genético do feijão, o que o método da população avalia?", você precisa compreender que, no melhoramento do feijão, esse método é utilizado para avaliar como a competição dos indivíduos está relacionada com a habilidade de sobrevivência de cada genótipo em campo, avaliando se os indivíduos que produzem maior número de sementes viáveis tendem a contribuir mais para a constituição da próxima geração.

Para o terceiro questionamento, "qual a principal característica deste método de seleção?", você precisará abordar a premissa do método que tem como principal característica a coleta de sementes todas juntas, em *bulk*, das gerações F_1 até F_5, retirando uma amostra de sementes para dar origem à próxima geração de avaliação.

Faça valer a pena

1. Um dos métodos aplicados ao melhoramento de espécies autógamas refere-se ao método da população, também conhecido como *bulk*. Pela aplicação desse método, o melhorista busca determinar o número de gerações necessárias para o início da seleção de plantas visando ao melhoramento genético da espécie que se pretende estudar. Além disso, ele analisa a competição dos indivíduos superiores em determinadas condições ambientais e busca determinar a capacidade desses indivíduos em contribuírem na constituição da próxima geração.

Com base no que foi exposto, no método da população, a seleção dos indivíduos superiores é determinada por um mecanismo básico da evolução. Sendo assim, qual das alternativas a seguir se refere a esse mecanismo:

a) Seleção artificial.

b) Seleção genealógica.

c) Seleção natural.

d) Seleção dos genótipos.

e) Seleção por homozigose.

2. Os métodos de melhoramento por condução de populações segregantes diferem entre si, principalmente pelo avanço de gerações para a obtenção dos indivíduos homozigotos. Quando a frequência de indivíduos homozigotos passa a ser alta, o melhorista inicia a seleção de plantas individuais para dar origem as novas linhagens desejáveis.

Com relação aos métodos de condução de populações segregantes de espécies autógamas, é correto afirmar que:

a) no método da população (*bulk*), a seleção é individual e deve ser feita desde as primeiras gerações de segregação;

b) o método de retrocruzamentos favorece a ação do ambiente, sem considerar o genótipo do indivíduo;

c) no método de descendência de uma única semente (SSD), as populações segregantes precisam ser conduzidas no ambiente similar ao qual o futuro cultivar será plantado;

d) a influência do ambiente pode ser desconsiderada nas gerações iniciais em todos os métodos de seleção;

e) no método genealógico (pedigree), a seleção das plantas é individual na população segregante em cada geração.

3. O método de retrocruzamentos tem sido muito empregado no melhoramento para transferência de características específicas, como a resistência a pragas e doenças e obtenção de cultivares com características desejáveis. Além de mais barato e de fácil utilização, esse método de seleção agride menos o meio ambiente. Por fim, o agricultor e o consumidor irão consumir produtos sem agrotóxicos.

Com base no que foi exposto, e nos seus conhecimentos sobre os métodos de melhoramento de plantas, assinale, com relação a esse método de seleção, qual das afirmativas a seguir está correta:

a) O indivíduo heterozigoto gerado do cruzamento entre os genitores é autofecundado, para se identificar os portadores de alelos que conferem resistência à doença.

b) A realização dos testes de progênies é necessária sempre para se escolher os genótipos desejados.

c) Utilizando os retrocruzamentos, o melhorista desenvolve uma nova cultivar.

d) Quando ocorre a transferência do alelo recessivo por esse método, não são necessárias autofecundações das progênies híbridas para atingir a homozigose.

e) O genitor recorrente é aquele que possui as características a serem transferidas participando apenas do cruzamento inicial.

Seção 4.2

Métodos de melhoramento de alógamas

Diálogo aberto

Prezado aluno, para continuarmos a nossa caminhada de aquisição de conhecimentos sobre os métodos de melhoramento de plantas, estudaremos os métodos aplicados ao melhoramento de espécies alógamas. Nesse sentido, abordaremos a seleção recorrente, endogamia, heterose e variedades híbridas, de modo que, ao final desta unidade, você estará apto a compreender e distinguir os métodos aplicados aos programas de melhoramento genético florestal.

Lembre-se de que você foi contratado pela empresa florestal e compõe oficialmente o seleto grupo de pesquisadores melhoristas que estão trabalhando no melhoramento de um híbrido de *Eucalyptus* conservado *ex situ*. Na seção anterior, você explicou como o método de retrocruzamentos poderia proteger o híbrido de um novo patógeno que poderia comprometer a produtividade de papel e celulose da empresa. Dessa forma, você realizou a primeira etapa do relatório baseado nos conhecimentos de como funciona o método dos retrocruzamentos. Nesta seção, teremos subsídios para fazer a segunda etapa do relatório, relacionada à contribuição da seleção recorrente para o melhoramento da espécie e considerações sobre o desempenho do híbrido. Portanto, imagine que você e os demais pesquisadores melhoristas (i) cruzaram as espécies puras de eucalipto *E. urophylla* e *E. grandis*, as mesmas utilizadas nos retrocruzamentos (descritos na seção anterior) para a obtenção do híbrido *Eucalyptus urograndis*, e detectaram, como esperado, que (ii) esse apresentou maior DAP (diâmetro à altura do peito) do que a média dos seus genitores utilizados no cruzamento. Essas espécies cruzadas apresentam boa capacidade específica de combinação, proporcionada pela presença de alelos dominantes favoráveis ao caráter melhorado em um dos genitores.

Portanto, você deve incluir no seu relatório as seguintes considerações: 1ª) Como a seleção recorrente poderia auxiliar no melhoramento do híbrido analisado?; 2ª) Por que as progênies híbridas obtidas no teste da empresa tiveram melhor desempenho que seus genitores?; 3ª) Quais as chances da ocorrência de endogamia no teste de progênies de *E. urograndis*?

Prezado aluno, monte o roteiro para a elaboração de seu relatório relacionando essas questões, pois isso é muito importante para formar o seu raciocínio sobre

os métodos da seleção recorrente e a importância da heterose na obtenção de híbridos em programas de melhoramento florestal. Essas questões serão discutidas e respondidas posteriormente, sendo, portanto, o nosso objetivo de aprendizagem. Voltamos aos estudos? Boa leitura!

Não pode faltar

O método de seleção recorrente, aplicado ao melhoramento de plantas, busca aumentar gradativamente a frequência de alelos desejáveis para características quantitativas, utilizando, para isso, ciclos repetidos de seleção sem reduzir a variação genética na população.

O termo "*recorrente*" está relacionado à repetição dos ciclos de seleção, a partir dos quais pretende-se promover o acúmulo dos alelos desejáveis. Esses ciclos podem ser repetidos quantas vezes forem necessárias para a elevação da frequência de alelos favoráveis na população, pois isso resulta em maior probabilidade de sucesso na obtenção de indivíduos superiores.

Essa técnica de seleção pode ser aplicada tanto no melhoramento das espécies autógamas quanto das alógamas, principalmente quando os objetivos são em longo prazo. O método envolve quatro etapas: a obtenção das progênies, a avaliação dessas progênies, a seleção das progênies e, por último, a recombinação das progênies superiores para formar a próxima geração.

• **Obtenção das progênies**: obtenção dos indivíduos para a aplicação do método de seleção, podendo ser meios-irmãos, irmãos-completos e parcialmente endogâmicos S_1 e S_2.

• **Avaliação das progênies**: são consideradas as repetições e os locais de realização dos ensaios (testes instalados), selecionando apenas um caráter ou vários caracteres combinados para a seleção das progênies superiores.

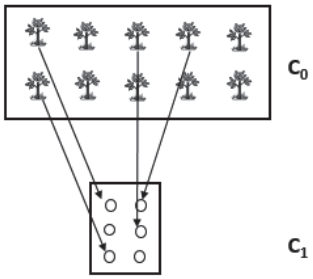
• **Seleção das progênies**: baseia-se nas médias da etapa anterior para realizar a seleção que, geralmente, são de 10 a 20% das progênies avaliadas.

• **Recombinação de progênies superiores**: nessa etapa, utiliza-se somente as progênies selecionadas para gerar a variabilidade genética necessária para constituição do próximo ciclo de seleção. Dessas progênies selecionadas, uma parte das sementes é destinada aos ensaios de produtividade e a outra parte (semente remanescente) é utilizada no campo para recombinação. Vale ressaltar que aquelas avaliadas são armazenadas para que, se forem selecionadas nos testes de avaliação, possam, no próximo ciclo de seleção, ser utilizadas no campo.

Inicialmente, os ciclos de seleção são submetidos à população-base, que pode ser constituída por indivíduos de polinização aberta ou por híbridos. Essa população deve apresentar variabilidade genética suficiente para assegurar o progresso nos diversos ciclos de seleção. Quando se busca a melhoria do comportamento de uma única população, estamos nos referindo à **seleção recorrente intrapopulacional**. Quando se planeja a melhoria simultânea de mais de uma população, objetivando o desenvolvimento de linhagens e/ou espécies com alta capacidade de combinação, de forma a se obter os híbridos, denominamos **seleção recorrente interpopulacional**. Embora mais indicada, essa última, demanda mais mão de obra durante a condução. O método da seleção recorrente pode ser dividido em dois tipos: **seleção recorrente fenotípica** e **seleção recorrente para capacidade geral de combinação**.

A seleção recorrente fenotípica refere-se ao método de melhoramento mais antigo utilizado em espécies alógamas, pelo qual os agricultores selecionavam as melhores plantas de milho para serem utilizadas como fontes de sementes para a safra seguinte (Figura 4.4). Nesse método, não são avaliadas as progênies e a seleção é baseada exclusivamente no fenótipo dos indivíduos da população, não sendo utilizada nenhuma informação do genótipo. Portanto, a população original é avaliada fenotipicamente e é coletado igual número de sementes de cada um dos melhores indivíduos selecionados para constituir a população submetida ao segundo ciclo de seleção. O procedimento se repete até que seja atingido o nível satisfatório de comportamento ou que o método não apresente resposta adequada à seleção.

Figura 4.4 | Método da seleção recorrente fenotípica



Fonte: Borém; Miranda (2013, p. 325).

No método de seleção recorrente para capacidade geral de combinação, inicialmente, um determinado número de plantas da população é autofecundado para obtenção de progênie do tipo S1; separadamente, são coletadas sementes de cada planta. Dessas sementes, parte é guardada (sementes remanescentes) para ser utilizada na etapa da recombinação de progênies superiores, e outra parte utilizada nos testes de avaliação semeadas nas linhas femininas. Na linha masculina, o melhorista utiliza uma variedade ou um híbrido como testador, ou seja, emprega aqueles indivíduos portadores dos alelos condicionantes, de características desejáveis ao melhoramento, para que sejam realizados os cruzamentos. As sementes obtidas do cruzamento devem

ser avaliadas em ensaios, envolvendo locais e repetições, em que serão selecionados os melhores indivíduos. Para que seja otimizado o tempo gasto em cada ciclo, os cruzamentos do teste podem ser realizados fora da época normal de plantio.

Pesquise mais

No artigo citado a seguir, você poderá aprender um pouco mais sobre as técnicas de seleção recorrente aplicadas ao melhoramento genético do eucalipto. O material foi desenvolvido por pesquisadores referência na área no Brasil.

RESENDE, M. D. V. et al. Seleção recorrente e o melhoramento genético do eucalipto no Brasil. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2000, Lavras-MG. **Anais**... Lavras-MG: UFLA, 2000. p. 59-84. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/36962/1/selecao-recorrente-e-o-melhoramento-genetico-do-eucalipto-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2016.

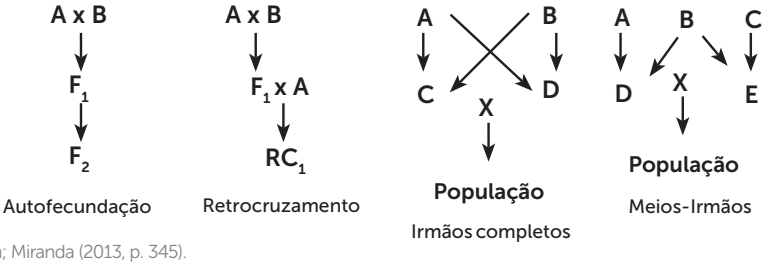
Endogamia: em programas de melhoramento genético de plantas, visando ao lançamento de novos híbridos com genótipos superiores, vem sendo utilizado, com sucesso, o conhecimento sobre a endogamia. Esta é caracterizada pelo aumento da homozigose nas descendências em razão de sucessivas gerações de cruzamentos endogâmicos, decorrentes de cruzamentos entre indivíduos aparentados e/ou por autofecundação. Essa última é o processo que leva ao grau mais intenso de endogamia; ela é observada comumente em plantas autógamas que possuem flores completas, ou seja, que possuem os órgãos masculino e feminino na mesma flor, como é o caso do feijão, amendoim, fumo, tomate e da leucena (*Leucaena leucocephala*).

Já nas plantas alógamas, é baixa a frequência de autofertilização natural, pois, em muitas espécies, como no caso do gênero *Eucalyptus*, a autofertilização é prejudicada pela protandria (os grãos de pólen são viáveis antes do estigma se tornar receptivo) e pelo fato de a reprodução ocorrer preferencialmente por polinização cruzada e ao acaso, ou seja, o pólen precisa ser transportado de uma planta à outra para ocorrer a fecundação. Portanto, esses fatores possibilitam que os descendentes obtidos sejam compostos por híbridos de famílias de meios-irmãos (quando o pai é conhecido) e de irmãos-completos (quando o pai e a mãe são conhecidos), como mostra a Figura 4.5, o que contribui para o baixo coeficiente de endogamia contrapondo aos elevados níveis de heterose observados em alógamas. Entretanto, algumas espécies do gênero *Eucalyptus* podem desenvolver o sistema reprodutivo misto, em que há a possibilidade de ocorrência da autogamia (em até 30%), por terem, em uma mesma planta, flores hermafroditas que amadurecem em épocas diferentes.

Existem três tipos de endogamia: (1) endogamia natural: comum em espécies de plantas autógamas; (2) endogamia artificial: não intencional e ocorre em populações

pequenas de espécies alógamas acarretando em cruzamentos entre parentes; (3) endogamia intencional: quando se força o aumento de homozigose nas descendências para a obtenção de linhagens endogâmicas em plantas, por exemplo, em programas de melhoramento genético.

Figura 4.5 | Sistemas de endogamia mais comuns



Fonte: Borém; Miranda (2013, p. 345).

Vocabulário

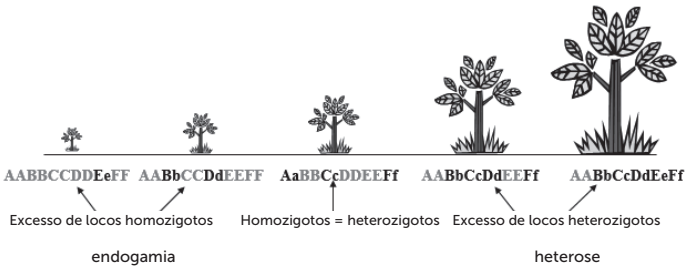
Coeficiente de endogamia: termo utilizado para se referir à probabilidade de dois alelos, em um único *loco*, tomados ao acaso de uma população, serem idênticos por descendência.

Em populações naturais de espécies florestais, com o aumento da endogamia, a diversidade genética é reduzida e a divergência genética entre as populações da espécie é aumentada, tornando-se populações geneticamente diferentes com o passar das gerações. Além disso, o aumento da homozigose pode desenvolver a depressão endogâmica, comum em espécies alógamas e não expressas em autógamas. Esse evento caracteriza-se pelo aumento de genes deletérios decorrentes dos genótipos em homozigose e que, portanto, se opõem à heterose (Figura 4.6), que veremos mais adiante, podendo afetar a produtividade e viabilidade do indivíduo. Como consequências da depressão endogâmica, podem ainda ocorrer a mortalidade e má formação de indivíduos, o desenvolvimento da susceptibilidade a doenças, perda de vigor e da fertilidade. Também permite expor os genes deletérios na população, proporcionando que o melhorista realize a seleção contra eles, de modo a garantir a viabilidade dessa população.

Exemplificando

Um bom exemplo do aumento da endogamia em espécies florestais diz respeito aos efeitos genéticos da fragmentação de florestas naturais em regiões de expansão das fronteiras agrícolas e de desmatamentos ilegais. Com a fragmentação, nos pequenos fragmentos formados, os indivíduos tornam-se cada vez mais aparentados no decorrer das gerações, ocasionando a redução da diversidade genética da população.

Figura 4.6 | Diferença no conjunto gênico entre endogamia e heterose



Fonte: elaborada pelo autor.

Heterose: a heterose, ou vigor híbrido, em espécies florestais refere-se ao aumento no desempenho das plantas, seja na altura e no DAP (diâmetro à altura do peito) da planta, ou em outros caracteres silviculturais. O cruzamento para a obtenção da heterose é realizado quando há o desejo de reunir em um mesmo indivíduo características desejáveis de cada um dos genitores cruzados, baseando-se na complementariedade de seus alelos. Desse cruzamento são gerados descendentes (híbridos) que apresentam desempenho melhor que o de seus genitores. Vale ressaltar que os níveis de heterose serão mais acentuados, quanto mais divergentes geneticamente forem os indivíduos envolvidos no cruzamento. Além disso, o entendimento da heterose é um dos primeiros passos para reconhecer que ela, juntamente com a endogamia, corresponde a fenômenos relacionados, embora opostos.

O vigor híbrido pode ser considerado o evento inverso aos efeitos gerados pela endogamia, e a sua manifestação pode ser observada fenotipicamente na área foliar, no desenvolvimento do sistema radicular, na altura da planta, na produtividade, na taxa fotossintética, no metabolismo celular, no tamanho e na cor do fruto etc. A partir da manifestação fenotípica, os melhores indivíduos podem ser clonados e utilizados em plantios comerciais do híbrido.

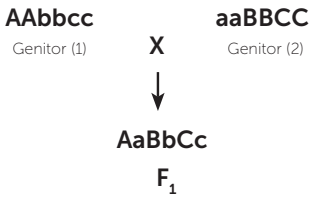
Em programas de melhoramento genético de espécies alógamas, uma estratégia muito utilizada para a obtenção dos híbridos refere-se ao cruzamento entre si de linhagens puras obtidas por autofecundações induzidas. Desse modo, as consequências desencadeadas pela depressão endogâmica, como a queda no vigor e na fertilidade, são restauradas levando à heterose.

Em se tratando da depressão endogâmica, uma de suas expressões é a dos alelos deletérios recessivos. Esses alelos acabam sendo acobertados pelos dominantes do outro genitor quando ocorre o cruzamento entre linhagens endogâmicas selecionadas. Algumas dessas linhagens podem apresentar boa complementaridade, em razão da presença de alelos favoráveis dominantes em um dos dois genitores para cada um dos locos de importância. Quando duas linhagens se complementam, significa que possuem boa capacidade específica de combinação e o híbrido produzido pelo seu cruzamento apresenta alto vigor. Isso ocorre devido ao híbrido conter número de

alelos dominantes favoráveis, maior do que nos genitores cruzados. Para melhor entendermos isso, a Figura 4.7 ilustra um modelo genético de cruzamento em que os alelos dominantes: A, B e C igualmente contribuem para a heterose, enquanto os alelos recessivos a, b e c são deletérios. O genitor (1) AAbbcc, o genitor (2) aaBBCC e o híbrido (F1) AaBbCc, apresentam, respectivamente, valor genético (correspondente ao número de alelos dominantes) igual à 1, 2 e 3. Nota-se, portanto, que o híbrido desse cruzamento possui valor superior ao de seus genitores.

O aproveitamento comercial da heterose pelo uso de híbridos em espécies florestais tem sido um dos principais responsáveis pelo aumento da produtividade no melhoramento florestal. Com base nisso, muitas empresas utilizam a hibridação artificial (polinização controlada) para que os cruzamentos entre os genitores sejam controlados, de forma que somente aqueles com características desejáveis permaneçam nos testes do programa de melhoramento.

Figura 4.7 | Modelo genético da hipótese da dominância contribuindo para a heterose



Fonte: elaborada pelo autor.

Assimile

Caro aluno, destacamos até aqui dois conceitos muito importantes para você assimilar: a endogamia, que é caracterizada pelo aumento do número de descendentes homozigotos gerados pelos cruzamentos entre indivíduos parentes e também por autofecundação. E o outro conceito, fundamental para entendermos a obtenção das variedades híbridas, é a relevância da heterose por obter descendentes com desempenho melhor que o dos seus genitores, muito importante em programas de melhoramento genético de plantas.

Variedades híbridas: no melhoramento genético das espécies alógamas, é priorizada a população, e não o indivíduo separadamente. Além disso, em alógamas a estrutura genética das populações é caracterizada durante a reprodução, levando em consideração o seu conjunto gênico e a recombinação gênica. Portanto, nesse grupo de plantas, é dada maior atenção aos aspectos quantitativos da população, em razão de a heterose propiciar a principal vantagem das variedades híbridas, que é o aumento da produtividade para determinada característica desejável.

As variedades híbridas se referem às progênies obtidas do cruzamento entre dois genitores geneticamente diferentes e são utilizadas para assegurar o controle da produção de sementes, possibilitando retorno econômico devido ao incremento na produtividade. Em outras palavras, os híbridos são os descendentes gerados do cruzamento entre duas linhagens puras e geneticamente diferentes, de onde são obtidas as plantas híbridas F_1 uniformes e geneticamente idênticas (com as características desejáveis) e que expressam alto vigor.

Existem diferentes tipos de variedades híbridas que, com base no cruzamento de linhagens, podem ser divididas em simples, simples modificada, tripla, tripla modificada e dupla. Por exemplo, o híbrido triplo [(A x B) x C] é obtido do cruzamento entre o híbrido (A x B) e a linhagem C. O híbrido simples modificado envolve o cruzamento entre duas linhagens muito próximas geneticamente (A x A'), cruzando esse híbrido com a linhagem B. Enquanto do cruzamento de quatro linhagens (A x B) x (C x D) é obtido o híbrido duplo.

Entretanto, para a obtenção da variedade híbrida, é necessário avaliar a capacidade de combinação de uma série de genitores potenciais, podendo ser utilizados, por exemplo, os cruzamentos dialélicos.

Vocabulário

Conjunto gênico: refere-se ao conjunto de genes presentes em uma população.

Cruzamentos dialélicos: cruzamento de todas as possíveis combinações de uma série de genótipos.

A capacidade de combinação é definida como a habilidade de uma linhagem autofecundada transmitir as características desejáveis ao melhoramento para uma progênie híbrida, na qual o seu comportamento dependerá da expressão da heterose resultante do cruzamento entre os genitores selecionados. Em paralelo ao processo de autofecundação, as linhagens devem ser testadas quanto à sua capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC).

Portanto, dois tipos de habilidade de combinação são considerados:

• **Capacidade geral de combinação**: refere-se à habilidade de um genótipo produzir progênies com dado comportamento, quando é cruzado com uma série de outros genitores, buscando eliminar as linhagens com comportamento desfavorável ao melhoramento.

• **Capacidade específica de combinação**: refere-se ao comportamento de uma combinação específica, e é realizada quando as linhagens já apresentam alto grau de homozigose (por volta da autofecundação S_5), podendo, portanto, desviar-se do comportamento observado na CGC.

Reflita

Vimos que a obtenção dos híbridos é muito importante em programas de melhoramento genético de plantas, principalmente para a obtenção de plantas com alto vigor; o que possibilitaria o aumento da produtividade. Seria possível obter híbridos resultantes do cruzamento de linhagens e/ou espécies diferentes? Por exemplo, entre o *Pinus taeda* L. e o *Eucalyptus grandis*. Explique!

Sem medo de errar

Agora que vimos os conteúdos a serem abordados nesta seção, vamos relembrar a situação apresentada inicialmente?

Esse é o momento da confecção da segunda parte do relatório em que você e os pesquisadores da empresa de melhoramento (i) cruzaram as duas espécies puras de eucalipto (*Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, ambas resistentes ao patógeno causador da morte dos tecidos da casca do tronco e apresentam ótimo desempenho nos caracteres silviculturais), sendo utilizadas nos retrocruzamentos (descritos na seção anterior) para a obtenção do híbrido *Eucalyptus urograndis,* e detectaram que (ii) esse apresentou maior DAP (diâmetro a altura do peito) do que a média dos seus genitores utilizados no cruzamento.

Agora, você deve incluir no seu relatório três considerações a respeito do conhecimento adquirido: 1ª) Como a seleção recorrente poderia auxiliar no melhoramento do híbrido analisado?; 2ª) Por que as progênies híbridas obtidas no teste da empresa tiveram melhor desempenho que seus genitores?; 3ª) Quais as chances da ocorrência de endogamia no teste de progênies de *E. urograndis*?

Dessa forma, descreva, de maneira introdutória, que a seleção recorrente é um método aplicado tanto às espécies autógamas quanto às alógamas, sendo os cruzamentos mais fáceis de serem obtidos nas alógamas. Tal método busca aumentar a frequência de alelos desejáveis para características importantes por meio do programa de melhoramento pretendido e isso é realizado em ciclos de seleção, que podem ser repetidos quantas vezes for necessário, de modo a possibilitar o acúmulo de alelos favoráveis e da probabilidade de indivíduos superiores serem obtidos.

Após definir a seleção recorrente, você precisa refletir sobre o tipo de seleção que poderia auxiliar no melhoramento da espécie que estamos acompanhando. Lembre-se de que estamos trabalhando com um híbrido resultante do cruzamento de duas espécies do gênero *Eucalyptus*, o *Eucalyptus grandis* e o *Eucalyptus urophylla*. Portanto, para a definição adequada das estratégias de melhoramento a serem empregadas, é necessário considerar a natureza do caráter que se pretende melhorar. O objetivo é o melhoramento do incremento do DAP, que se trata de um caráter

quantitativo controlado por grande número de genes e que, por esse motivo, será baseado na estratégia do melhoramento do híbrido entre indivíduos de diferentes populações, correspondendo ao tipo de seleção recorrente interpopulacional. Em eucalipto, esse método de seleção é muito importante devido à necessidade de se obter o maior ganho possível em cada ciclo seletivo. Desse modo, o melhoramento buscará aperfeiçoar a média do cruzamento entre os indivíduos das duas espécies, bem como a heterose entre elas.

Em seguida, podemos responder ao segundo questionamento, para isso, precisamos relembrar os conceitos de heterose. Portanto, primeiramente, seria interessante defini-la como o fenômeno pelo qual indivíduos com características distintas são cruzados e os descendentes gerados apresentam desempenho melhor que seus genitores. Além de quanto mais divergentes forem os indivíduos cruzados, maiores serão os níveis de heterose. Com base nisso, podemos relatar que o híbrido estudado, embora tenha sido obtido do cruzamento de indivíduos com características distintas, tem em ambas as espécies boa capacidade específica de combinação, proporcionada pela presença de alelos dominantes favoráveis ao caráter melhorado em um dos genitores utilizados no cruzamento, o que possibilitou que o híbrido produzido apresentasse alto vigor, maior do que em seus genitores.

Por fim, sobre a endogamia, sugere-se descrever inicialmente que essa é caracterizada pelo aumento da homozigose nos descendentes e é resultado dos cruzamentos entre indivíduos parentes ou da capacidade da planta de se autofecundar. Ressalte que, sendo as espécies florestais basicamente alógamas, como no caso da espécie estudada, a reprodução ocorre ao acaso, de modo cruzado entre as plantas doadora e receptora do pólen. Relate que, devido aos mecanismos desenvolvidos nas espécies alógamas, como a protandria (já estudada na Seção 3.3 da Unidade 3), os cruzamentos entre parentes e, principalmente, as autofecundações não são possíveis, o que reduz as chances de ocorrência de endogamia no teste de progênies do híbrido.

Avançando na prática

A polinização controlada no melhoramento genético do eucalipto

Descrição da situação-problema

Imagine que você participará de um workshop na área florestal no qual deverá apresentar o seu trabalho na forma de um pôster. Nesse trabalho, você avaliou um pomar de cruzamento de eucalipto, onde foi utilizada a hibridação artificial (polinização controlada) para a obtenção de genótipos superiores (híbridos). Considere que, para a realização desse projeto, você utilizou genitores geneticamente divergentes e com dominância gênica entre si, dos quais se obteve plantas com altura superior à dos genitores.

Durante a sua participação no evento, os examinadores lhe fizeram três perguntas: 1) Qual a importância da heterose para o melhoramento da espécie? 2) De que forma a polinização controlada contribui para o melhoramento genético? 3) Como explicar que o híbrido obtido possui desempenho melhor que o dos seus genitores?

Agora é com você! Responda aos questionamentos.

Resolução da situação-problema

Para responder aos questionamentos feitos pelos examinadores, você precisa compreender que estamos em um processo de aprendizagem contínuo e que tais questionamentos abordam todo o conteúdo apresentado nesta seção de modo interligado.

Diante disso, para responder ao primeiro questionamento, você deve relembrar que a heterose é importante para o melhoramento genético por explorar o vigor-híbrido das plantas superiores (genitores) cruzadas, de onde são obtidos os melhores indivíduos (híbridos) a serem clonados e utilizados em plantios comerciais. Além disso, ressalte aos examinadores que, quanto mais diferentes forem os genitores utilizados para o cruzamento, mais acentuados serão os níveis obtidos de heterose, e que a manifestação da heterose nos híbridos pode ser um fator importante, através da clonagem dos melhores indivíduos para o aumento da produtividade.

Quanto ao segundo questionamento, explique que a polinização controlada é uma técnica utilizada para a exploração desse vigor-híbrido de genitores selecionados, objetivando a obtenção de híbridos com características superiores, ou seja, de forma a contribuir para o aumento dos níveis de heterose nos híbridos que acabamos de relatar. Continue relatando que, por meio dessa técnica, são controlados os cruzamentos entre os genitores, para permitir que somente aqueles que possuam as características que o melhorista deseja permaneçam nos testes de progênies e, posteriormente, para os testes clonais.

Por fim, para responder ao terceiro questionamento, você precisa compreender que só serão obtidos híbridos com alto vigor se os genitores a serem cruzados se complementarem, ou seja, possuírem boa capacidade específica de combinação entre os alelos dominantes e os recessivos deletérios para cada um dos locos de importância das características desejáveis ao melhoramento. Lembre-se de que o alto vigor dos híbridos ocorre por neles conter maior número de alelos dominantes favoráveis, maior que em ambos os genitores.

Faça valer a pena

1. Uma das principais premissas dos programas de melhoramento de plantas objetivando à obtenção de indivíduos superiores refere-se ao acúmulo de alelos favoráveis condicionantes para características desejáveis ao melhoramento na população. Nesse contexto, há uma técnica de seleção que busca aumentar de forma gradual e repetitiva a frequência dos alelos desejáveis ao melhoramento, sem reduzir a variabilidade genética da população avaliada. Para tanto, os ciclos de seleção podem ser repetidos quantas vezes forem necessárias para o sucesso na obtenção dos indivíduos superiores.

Com relação ao texto exposto, o aumento da frequência de alelos desejáveis refere-se a que método de seleção aplicado ao melhoramento genético de plantas?

a) Método dos retrocruzamentos.

b) Método genealógico.

c) Método da população.

d) Seleção recorrente.

e) Método da heterose.

2. Uma melhorista analisando duas espécies de eucalipto, as espécies A e B, para o caráter altura das plantas, realizou o cruzamento de ambas para a obtenção do híbrido C. Pôde-se notar que os alelos dominantes contribuíam para a heterose e os recessivos eram deletérios. Além disso, notou que os genótipos das espécies A, B e do híbrido C eram, respectivamente: aaBBCCddeeff (genitor A), AAbbccDDEEFF (genitor B) e AaBbCcDdEeFf (híbrido).

Considerando que os genitores possuam boa capacidade específica de combinação e que o híbrido tenha apresentado a maior altura, qual o valor genético dos genitores A e B, respectivamente, sabendo que o valor do híbrido é 6:

a) 1 e 3

b) 2 e 4

c) 5 e 3

d) 2 e 4

e) 4 e 8

3. A seleção recorrente fenotípica é um dos métodos de seleção recorrente e se refere ao método de melhoramento mais antigo utilizado em espécies alógamas, através do qual os agricultores selecionavam as melhores plantas de milho para serem utilizadas como fonte de semente para a safra seguinte.

Com relação à seleção recorrente fenotípica, assinale a alternativa que trata das características desse método de seleção:

a) São avaliadas somente as progênies e utilizada toda a informação do genótipo.

b) Não são avaliadas as progênies, sendo a seleção baseada no fenótipo dos indivíduos da população.

c) Utiliza-se toda a informação do genótipo das progênies das quais são coletadas sementes para armazenamento.

d) Sempre para a formação da próxima geração a ser constituída, são utilizadas sementes coletadas em número variável de cada progênie da população.

e) Determinado número de plantas da população são autofecundadas para obtenção de progênie do tipo S_1.

Seção 4.3

Métodos de melhoramento de espécies assexuadamente propagadas

Diálogo aberto

Caro aluno, chegamos à última seção desta unidade. Nós já estudamos os métodos de melhoramento das plantas autógamas e alógamas e, nesta seção, estudaremos os métodos de melhoramento das espécies assexuadamente propagadas, em que abordaremos a técnica da cultura de tecidos e os estudos da interação genótipo-ambiente, de modo que, ao final, você estará apto a entender a importância da propagação clonal e do estudo da interação genótipo-ambiente para o melhoramento florestal e compreender, de maneira geral, todos os métodos aplicados no melhoramento de plantas.

Você se lembra do *Convite ao estudo*, apresentado na Seção 4.1? Nele, você está participando do seleto grupo de melhoristas da empresa de melhoramento florestal, que tem por função elaborar um relatório com alternativas para aperfeiçoar o desenvolvimento das plantas de eucalipto mediante análise de metodologias de seleção, tendo por base um projeto com o híbrido *Eucalyptus urograndis* conservado *ex situ* (obtido do cruzamento do *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*), objetivando o aumento da produtividade de papel e celulose pelo incremento no DAP. Até aqui, você já redigiu a primeira parte do documento, no qual esboçamos o que é genitor recorrente e como funciona o método de retrocruzamentos, e a segunda parte, que trata das contribuições da seleção recorrente para o melhoramento da espécie e considerações sobre o desempenho do híbrido.

Agora, vamos imaginar que os pesquisadores da empresa utilizaram propágulos provenientes da cultura de tecidos do híbrido obtido para a realização de testes clonais (indivíduos idênticos) instalados em três regiões distintas, nas quais foram observadas variação do DAP em diferentes condições ambientais. Para finalizar o relatório, você deverá explorar alguns pontos, sendo o primeiro uma descrição da técnica de cultura de tecidos para promover a propagação assexuada da espécie. Como você descreveria isso? E quais as vantagens da técnica para o híbrido de eucalipto? O segundo ponto trata da proposição da interação genótipo x ambiente. Qual a explicação para os

indivíduos idênticos geneticamente do híbrido obterem desempenhos variados nos testes clonais instalados em diferentes locais?

Nesta seção, que finalizará a nossa quarta unidade de ensino e a disciplina, teremos subsídios para a abordagem de tais pontos no relatório. Para tal, serão abordados os principais aspectos sobre os métodos e conteúdos relacionados ao melhoramento de espécies assexuadamente propagadas, como as técnicas da cultura de tecidos, a variabilidade nos parentais e os estudos da interação genótipo-ambiente. Boa leitura!

Não pode faltar

Caro aluno, como pudemos ver na Unidade 3 "Sistemas Reprodutivos das Plantas", naturalmente as plantas podem ser propagadas sexuadamente (por sementes), ou assexuadamente, por utilização de técnicas pelas quais são multiplicadas partes da planta dando origem a indivíduos geneticamente idênticos à planta-mãe. Um dos métodos mais utilizados para o melhoramento de espécies assexuadamente propagadas, inclusive das espécies florestais, é a propagação vegetativa ou clonagem.

Com o intuito de aumentar a produtividade nas empresas de melhoramento florestal, são combinadas as técnicas de melhoramento genético clássico aos conhecimentos relacionados à propagação vegetativa. Como resultado de sua utilização, atualmente a maioria das florestas plantadas de eucaliptos, por exemplo, é proveniente de mudas produzidas por propagação vegetativa.

Vantagens e desvantagens

O melhoramento das espécies assexuadamente propagadas pode ser considerado menos laborioso e mais rápido que o das espécies propagadas sexualmente, já que consiste em obter uma população segregante por hibridação entre genitores selecionados ou mesmo por autofecundação e seleção dos indivíduos superiores.

No entanto, as técnicas utilizadas possuem, além de vantagens, algumas desvantagens, que devem ser muito bem estudadas antes de se iniciar um programa de melhoramento genético de plantas.

A propagação vegetativa possui, como principais vantagens, a multiplicação e a reprodução em larga escala das plantas superiores com características desejáveis, o que pode ser efetuado em qualquer etapa do programa de melhoramento da espécie. Além dessas, outras vantagens da propagação vegetativa são importantes, dentre elas:

– Menor tempo é requerido para a realização da primeira seleção de plantas obtidas (clones) no ciclo.

– ganhos genéticos são obtidos em uma mesma geração de seleção, quando as condições do clima e do solo são homogêneas;

– obtenção de melhor qualidade e forma da madeira produzida;

– uniformidade no crescimento das plantas;

– multiplicação de indivíduos resistentes tanto às pragas quanto às doenças;

– aumento da produtividade dos plantios clonais;

– obtenção de viveiros clonais uniformes a partir de propágulos via cultura de meristemas, como no caso do eucalipto.

Entretanto, com relação ao menor tempo requerido para a realização da primeira seleção de plantas obtidas, podemos também observar desvantagens, já que o método induz o melhorista a não utilizar os níveis intermediários do desenvolvimento da característica desejável, como no caso da tolerância ou da resistência a doenças, que são difíceis de serem mensuradas em apenas uma avaliação, além de poder acarretar na perda da variabilidade genética da população.

Outras desvantagens da utilização de propagação vegetativa são o risco de estreitamento da base genética dos plantios clonais quando utilizado pequeno número de clones (devido aos indivíduos gerados nos plantios serem provenientes dos mesmos clones e esses serem semelhantes geneticamente entre si), as dificuldades tanto na ocorrência de enraizamento em plantas não juvenis quanto na obtenção de enraizamento em algumas espécies ou clones, além de ser mais intensa a disseminação de pragas e doenças, devido ao uso de partes vegetativas, quando comparado à reprodução via sementes, que elimina, ou pelo menos reduz, a transmissão delas.

Uma técnica de propagação vegetativa que vem sendo bastante utilizada como ferramenta auxiliar nos programas de melhoramento de plantas é a cultura de tecidos. Essa técnica tem como principal vantagem conferir às espécies propagadas assexuadamente a possibilidade de serem exploradas como espécies anuais, uma vez que a produção de propágulos clonais pode ser atingida rapidamente e de maneira uniforme. Além disso, as mudas produzidas possuem diversas vantagens em relação às mudas convencionais, dentre elas:

– ausência de patógenos que podem desencadear doenças importantes, como nematoides, bactérias e fungos de solo, que acabam sendo transmitidas para novas áreas;

– uniformidade genética;

– maior vigor fisiológico;

– grande quantidade de plantas criadas em um curto período de tempo.

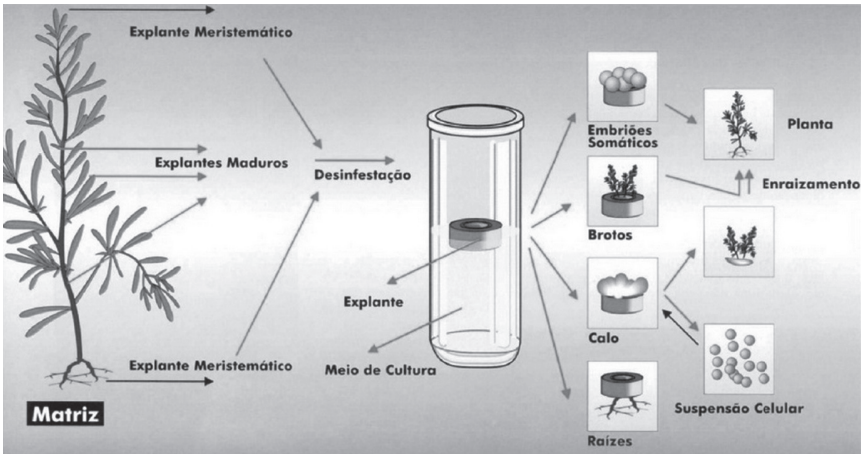
As desvantagens da técnica de cultura de tecidos são o alto custo necessário para sua execução e a complexidade requerida, devido à maioria das etapas ocorrerem em laboratório e casa de vegetação antes do novo cultivar ser lançado a campo. Além disso, embora a uniformidade genética seja considerada uma vantagem, ela também acarreta na redução dos níveis de diversidade genética na população, por serem todas as plantas geneticamente idênticas, ou seja, clones da planta-mãe.

Cultura de tecidos

Há ocasiões em programas de melhoramento genético de plantas em que se deve utilizar da técnica de cultura de tecidos. Isso ocorre, principalmente, quando a taxa de multiplicação da espécie é baixa, a propagação de novas cultivares pelos métodos clássicos é muito difícil e quando os novos cultivares a serem utilizados são comercialmente muito caros.

Nessa técnica, também conhecida como micropropagação, pequenos fragmentos de tecidos (explante) são retirados de uma planta e cultivados *in vitro* na presença de reguladores de crescimento e de meio de cultura apropriado (nutritivo), para induzir a produção de novas gemas que serão multiplicadas nas mesmas condições a cada novo ciclo de cultivo, para se obter um novo indivíduo com o genótipo idêntico à doadora do explante (Figura 4.8). Para isso, podem ser utilizados como explantes: células, tecidos ou órgãos, dentre esses órgãos de armazenamento, raízes, cotilédones, embriões zigóticos, protoplastos, tecidos foliares, fragmentos de hastes e partes em crescimento ativo, como gemas axilares e apicais, com o objetivo da regeneração *in vitro*.

Figura 4.8 | Princípio geral da cultura de tecidos



Fonte: Kerbauy (1997, p. 31).

Entretanto, a regeneração *in vitro* dependerá da capacidade do explante em se desenvolver nas condições do meio de cultura em que foi inserido, de modo que seja promovida a multiplicação das células até o completo desenvolvimento das plantas inteiras. Essa capacidade de desenvolver uma nova planta multicelular sob estímulos apropriados ao meio de cultura é denominada totipotência. Embora seja esperado que todas as células sejam totipotentes, pelo fato de os explantes serem uma mistura de células em variados estados, com a exposição em ambiente limitante (*in vitro*), o que ocorre é que somente algumas células do explante respondem bem às condições impostas pelo meio de cultura, levando à regeneração de um novo indivíduo.

Nesse sentido, três fatores podem afetar a regeneração *in vitro*:

a) **Fonte de explante**: depende da maturidade, do tecido (folha, caule, meristema e raiz) e do estágio fenológico do material utilizado, de modo que jovens e em crescimento são consideradas as melhores fontes de explante.

b) **Condições do meio de cultivo**: a técnica objetiva disponibilizar todas as condições ideais para que uma nova planta consiga se desenvolver. Portanto, o sucesso da regeneração *in vitro* necessitará do meio de cultura, pela combinação de sais minerais, nitrogênio reduzido, fonte de carbono e vitaminas, além da disponibilidade de temperatura e luminosidade acessível para fornecer condições ao cultivo.

c) **Genótipo**: o genótipo a ser escolhido e utilizado dependerá dos objetivos do melhorista, podendo ser uma cultivar, espécie ou variedade. A resposta às condições de cultivo ocorre de maneira diferente, inclusive quando utilizadas variedades de uma mesma espécie.

Exemplificando

Vimos que a capacidade de regeneração *in vitro* depende do estágio fisiológico do tecido utilizado como fonte de explante. No entanto, algumas fontes não são tão boas para essa técnica, por exemplo, o caso de uma folha em senescência que já perdeu grande parte dos seus nutrientes e que se encontra em processo degenerativo.

Além disso, cinco etapas compreendem os procedimentos para a regeneração *in vitro* de um novo indivíduo, sendo elas a inoculação, o estabelecimento, a multiplicação, o alongamento/enraizamento e a aclimatação.

1. Inoculação: pelo processo de esterilização, são desinfetados superficialmente os explantes retirados da planta doadora, os quais serão inoculados em um meio de cultura para a propagação. Esse processo é muito importante, pois, se houver contaminação da cultura de tecidos por microrganismos patogênicos, esses podem produzir toxinas ou competir por nutrientes, influenciando a regeneração do explante.

2. Estabelecimento: após realizada a desinfestação, o explante obtido é colocado em um meio de cultura com vitaminas, minerais e hormônios de crescimento, até estarem estabelecidos.

3. Multiplicação: logo em seguida, o explante é transferido para outro meio nutritivo para que se multiplique.

4. Alongamento/enraizamento: com a utilização de reguladores de crescimento, as mudas obtidas são alongadas e enraizadas até atingirem um tamanho adequado para a fase final.

5. Aclimatação: nessa etapa, as mudas, já com tamanho considerável, são transferidas para estufas sob condições controladas de temperatura e umidade, para que posteriormente possam ser levadas para o campo.

Vocabulário

Totipotência: capacidade de uma única célula num organismo se dividir e produzir todas as células diferenciadas.

Vale ressaltar que a regeneração pode ocorrer por embriogênese somática ou organogênese. Na embriogênese somática, o desenvolvimento para a formação dos embriões é induzido pelas células somáticas (células responsáveis pela formação dos tecidos), podendo ser de forma indireta ou direta. Na primeira, os embriões somáticos são induzidos e desenvolvidos pela proliferação e crescimento dos calos, enquanto que, na direta, a embriogênese pode ocorrer diretamente de um explante, não passando pela fase de formação dos calos.

Vocabulário

Calos: massa celular vegetal esbranquiçada ou amarelada, em crescimento desordenado, não diferenciado e em proliferação contínua.

Na organogênese, o desenvolvimento dos órgãos vegetais é induzido pela diferenciação das células, podendo ser como na embriogênese somática, de forma direta ou indireta. Na primeira, o órgão vegetal induzido se desenvolve diretamente de um explante, não passando pela fase de formação dos calos. Já na segunda forma, passa pela fase de proliferação e crescimento dos calos, havendo a indução dos brotos e raízes para ocorrer o desenvolvimento dos tecidos.

Além disso, para que todas as etapas sejam realizadas, uma série de cuidados é utilizada pelos biotecnologistas, começando pelo manuseio de todos os procedimentos em laboratório com infraestrutura adequada, de modo que o ambiente, que são as salas de crescimento onde são acomodadas as plantas originais (doadoras do

explante), esteja livre de contaminação por microrganismos (condições assépticas) e sob condições controladas de umidade, temperatura e luminosidade.

Variabilidade nos parentais

O sucesso dos programas de melhoramento de espécies assexuadamente propagadas dependerá inicialmente da escolha dos parentais e do planejamento de cruzamentos desses para a obtenção do material (geralmente um híbrido), que será clonado e propagado vegetativamente em testes clonais.

O planejamento cuidadoso maximiza a obtenção de alelos desejáveis nos testes clonais e, consequentemente, promove o aumento da produtividade. Para tanto, deve-se realizar não somente a seleção dos melhores indivíduos com base na manifestação fenotípica, mas também na análise genotípica em busca por alelos de interesse que condicionarão tais características na planta-mãe, a doadora do explante.

Para isso, as técnicas biotecnológicas utilizando marcadores moleculares altamente polimórficos estão entre as ferramentas úteis na identificação e caracterização genética de plantas a serem selecionadas como planta-mãe.

Como resultado, quanto maior for a variabilidade genética nos parentais, mais altamente heterozigóticas serão as progênies selecionadas (doadoras do propágulo) para a propagação clonal e menores as chances de ocorrência dos efeitos gerados pela endogamia, como a redução do vigor, da fertilidade e a susceptibilidade a novas doenças e pragas da espécie propagada, o que promoveria a perda do teste clonal pela redução na produtividade esperada. Portanto, a variabilidade genética, passível de seleção, é a função do número de genes e da divergência dos parentais cruzados.

Entretanto, por não ocorrer o processo de recombinação gênica nas espécies propagadas assexuadamente, fator esse responsável pela elevação da variabilidade genética, espera-se que nos testes clonais os níveis de variabilidade sejam baixos por serem clones e, consequentemente, que as plantações sejam altamente produtivas por reproduzirem indivíduos com as características de interesse ao melhoramento, sendo, para isso, o uso da propagação vegetativa uma boa opção.

Interação genótipo-ambiente

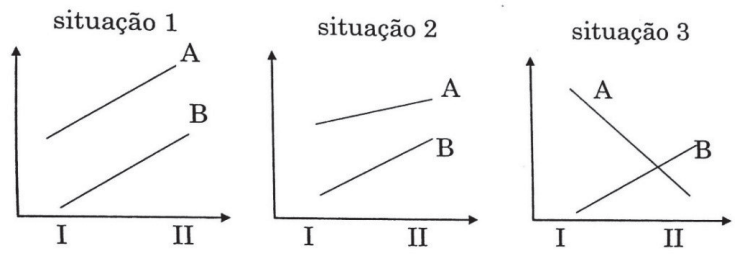
No melhoramento das espécies assexuadamente propagadas, da mesma forma que o genoma dos indivíduos é fixado por meio da propagação clonal, a seleção deve ser conduzida durante alguns anos em diferentes ambientes, buscando observar toda alteração no desenvolvimento relativo dos genótipos nesses diferentes locais, o que é denominado interação genótipo-ambiente (G x A).

A avaliação de genótipos visando à identificação e recomendação de materiais genéticos superiores para as características desejáveis em diferentes ambientes é uma das etapas mais importantes em programas de melhoramento florestal, pois a produtividade é relativamente aumentada quando a espécie a ser melhorada é adaptada às condições ambientais do local em que será implantado o teste. Isso ocorre porque o ambiente é constituído de um conjunto de fatores que não são de origem genética, mas sim, por exemplo, constituído por condições edafoclimáticas, ocorrência de patógenos, entre outras variáveis naturais, que podem afetar o desenvolvimento das plantas.

Assim, a melhor população ou indivíduo em um ambiente não necessariamente será o melhor em outros ambientes, de forma que um mesmo genótipo pode responder diferentemente em ambientes distintos. Nesse sentido, na análise da interação (G x A), devem ser consideradas a estabilidade e a adaptabilidade dos diferentes genótipos diante de variações das condições ambientais. Embora estejam relacionados, esses são fenômenos distintos, em que a estabilidade se refere à capacidade de sobrevivência, crescimento e reprodução do indivíduo nas condições ambientais da instalação do teste, enquanto a adaptabilidade diz respeito à capacidade do genótipo de exibir desempenho constante mesmo com as variações ambientais.

Na Figura 4.9, temos três situações que demonstram a ocorrência da interação G x A de duas variedades, A e B. Na situação I, não ocorre a interação G x A, uma vez que o ambiente promove a mesma alteração nas variedades A e B. Nas situações 2 e 3, a variação no comportamento das variedades A e B foi diferente com a alteração do ambiente, caracterizando a ocorrência da interação G x A.

Figura 4.9 | Comportamento hipotético das variedades A e B, nos ambientes I e II, em três situações distintas



Fonte: Borém; Miranda (2013, p. 381).

Assimile

Em programas de melhoramento florestal, uma das etapas mais importantes é a avaliação de genótipos com características desejáveis em diferentes ambientes, como modo de identificar os genótipos mais bem adaptados às condições ambientais do local, onde promoverão o aumento da produtividade.

Se for significativa a interação G x A, o melhorista precisa adotar critérios para a interpretação dos dados, pois é importante saber se a interação resultou da alteração na ordem de disposição dos genótipos de um ambiente para outro ou de uma simples alteração das diferenças entre os genótipos.

Existem diversos fatores que podem afetar o desenvolvimento das plantas, sendo eles divididos em previsíveis e imprevisíveis. Dentre os fatores previsíveis, têm-se o fotoperíodo, o tipo de solo, a fertilidade do solo e a época de semeadura. Entre os fatores imprevisíveis, estão a distribuição de chuvas, a umidade relativa do ar, a temperatura atmosférica e do solo, além dos fitopatógenos causadores de diversas doenças.

Pesquise mais

No artigo citado a seguir, você poderá aprender um pouco mais sobre os efeitos da interação genótipo-ambiente realizado por renomados melhoristas brasileiros em programas de melhoramento genético de Eucalyptus saligna instalados em ensaios em três regiões diferentes.

MORI, E. S.; LELLO, L. R. B.; KAGEYAMA, P. Y. Efeitos da interação genótipo x ambiente em progênies de Eucalyptus saligna Smith. **IPEF**, Piracicaba, n. 33, p. 19-25, 1986. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr33/cap02.pdf>. Acesso em: 6 dez. 2016.

Reflita

Vimos que, na técnica da micropropagação pela utilização de explantes extraídos de plantas e cultivados *in vitro* em meios de culturas nutritivos, é possível obter um novo indivíduo geneticamente idêntico à planta doadora do explante. No entanto, devido à capacidade de regeneração, nem todas as células vegetais proliferam no meio de cultura, levando à obtenção de uma nova gema.

Prezado aluno, como é denominada a capacidade de regeneração das células e quais fatores podem afetar a regeneração *in vitro*?

Sem medo de errar

Prezado aluno, agora que vimos os conteúdos básicos desta seção, vamos relembrar a situação apresentada inicialmente?

Você compõe o grupo de pesquisadores melhoristas da empresa de melhoramento florestal e está trabalhando no melhoramento do híbrido *Eucalyptus urograndis* conservado *ex situ*. Nesta última etapa do trabalho, vocês utilizaram propágulos provenientes de cultura de tecidos do híbrido para a realização de testes clonais instalados em três regiões distintas, em que foram verificadas variações do DAP nas diferentes condições ambientais. Para finalizar o relatório solicitado pela empresa, você precisará (i) apresentar uma descrição da técnica de cultura de tecidos para promover a propagação assexuada da espécie, descrevendo como ela ocorre e as suas vantagens para o híbrido e (ii) buscar uma explicação para o fato de os indivíduos idênticos geneticamente do híbrido terem obtido desempenhos variados nos testes clonais instalados em diferentes locais. Afinal, por que isso ocorreu?

Seria interessante começar suas considerações descrevendo brevemente que, pela utilização da técnica de micropropagação, pequenos fragmentos, como células, tecidos ou órgãos extraídos da planta-mãe (explante) são cultivados em um meio de cultura contendo sais mineiras, vitaminas, nitrogênio reduzido e fonte de carbono, além de disponibilidade de luminosidade e temperatura, para que todas as condições ideais sejam fornecidas para promover a regeneração *in vitro* de novas gemas apicais e axilares, que, multiplicadas, desenvolverão novas plantas do híbrido, idênticas à planta-mãe. Como estamos trabalhando com o híbrido *Eucalyptus urograndis*, uma espécie perene cujo ciclo de vida é longo, a principal vantagem da micropropagação nesse caso é a de proporcionar ao híbrido propagado assexuadamente a possibilidade de ser explorado como espécie anual (aquelas que completam seu ciclo de crescimento em um ano), por serem obtidos os propágulos clonais necessários para a instalação dos viveiros clonais mais rapidamente. Além disso, as mudas produzidas por essa técnica são livres de patógenos causadores de doenças importantes e possuem maior vigor fisiológico e uniformidade genética, o que é esperado pela propagação clonal.

A fim de responder ao segundo ponto, é importante relembrar os conceitos sobre a interação genótipo-ambiente (G x A). Para isso, você pode iniciar descrevendo-a como o estudo de parâmetros genéticos muito utilizado nos programas de melhoramento genético de plantas, em que se busca avaliar a variação do desenvolvimento de genótipos em diferentes condições ambientais que não são de origem genética. Ressalte que não necessariamente a melhor população ou indivíduos em um ambiente obterão melhor desempenho em outros ambientes, de modo que um mesmo genótipo pode responder diferentemente em ambientes distintos, como foi o caso para o híbrido de eucalipto. Isso ocorre devido a diversos fatores não genéticos que afetam o desenvolvimento das plantas em determinados ambientes. Destaque

os fatores previsíveis e, principalmente, aqueles imprevisíveis (como os novos fitopatógenos causadores de doenças, a umidade do ar e a distribuição de chuvas), pois, para esses, por mais que os programas de melhoramento evoluam, o controle é mais difícil de ser alcançado.

Avançando na prática

Adaptabilidade e estabilidade em três testes clonais de *Eucalyptus camaldulensis*

Descrição da situação-problema

Caro aluno, imagine que agora você irá apresentar seu trabalho de conclusão do curso em engenharia florestal a uma banca examinadora. Em campo, você já realizou o melhoramento clássico para selecionar as melhores plantas das quais foram extraídos os materiais para a obtenção dos clones utilizados no projeto. De modo geral, seu projeto era analisar a variação do DAP por meio da análise da adaptabilidade e estabilidade desses clones de *Eucalyptus camaldulensis* instalados em três testes clonais; em Viçosa-MG, Três Lagoas-MS e Curitiba-PR. Para isso, você utilizou o delineamento experimental em blocos casualizados, com seis repetições, sendo três plantas por parcela, totalizando 145 plantas, nas quais foi medido o DAP (diâmetro à altura do peito).

Após a sua apresentação, os examinadores lhe fizeram três perguntas: 1) Por que você instalou os testes clonais em três regiões diferentes? 2) Como a adaptabilidade e estabilidade influenciaram no desempenho dos indivíduos? 3) Qual técnica de propagação assexuada foi utilizada no melhoramento da espécie *Eucalyptus camaldulensis*?

Resolução da situação-problema

Para responder à primeira pergunta, seria importante relembrar que a interação genótipo-ambiente é uma das etapas mais importantes em programas de melhoramento genético de plantas, por identificar e recomendar os materiais genéticos superiores se baseando na avaliação de genótipos em diferentes locais sob condições ambientais distintas. Você poderia ressaltar para os examinadores que os testes foram instalados em locais diferentes para a avaliação do desempenho para DAP frente às variações ambientais de cada local, por exemplo, pelas condições do clima, da umidade do ar, tipo de solo, da precipitação, entre outras variáveis que podem, dependo da interação, acarretar na redução do crescimento e também perdas por morte de algumas árvores instaladas nos testes clonais.

Quanto ao segundo questionamento, você poderia explicar aos examinadores que os fenômenos da adaptabilidade e estabilidade são importantes para os resultados da interação (G x A), pois, pelo estudo da adaptabilidade, o melhorista consegue avaliar se o indivíduo se encontra adaptado às condições ambientais de cada região em que os testes foram instalados, sendo, para isso, avaliados o crescimento, a sobrevivência e a reprodução dos clones. Através do estudo da estabilidade, torna-se possível o pesquisador mensurar se o genótipo conseguirá exibir constantemente o desempenho observado diante das variações ambientais que ocorrerem.

Por fim, para responder à terceira pergunta, uma sugestão seria aumentar a produtividade pelo incremento no DAP e na altura, após terem sido realizados os melhoramentos clássicos em campo, por meio dos quais foram obtidas as plantas com genótipos superiores. Essas foram selecionadas e, através das técnicas de propagação assexuada, especificamente pela micropropagação (cultura de tecidos), buscou-se a multiplicação desse material genético superior como forma de multiplicar também o número de plantas com melhor desempenho, levando ao aumento da produtividade.

Faça valer a pena

1. Os métodos de melhoramento das espécies assexuadamente propagadas podem ser considerados como menos laboriosos e mais rápidos que das espécies propagadas sexualmente. No entanto, o melhorista, antes de iniciar um programa de melhoramento genético, deve procurar entender quais as vantagens e desvantagens da técnica a ser utilizada.

Com relação às vantagens e desvantagens dos métodos de melhoramento de espécies assexuadamente propagadas, qual das alternativas a seguir corresponde a uma vantagem da técnica da cultura de tecidos?

a) Presença de patógenos.

b) Menor vigor fisiológico.

c) Uniformidade genética no crescimento das plantas.

d) Obtenção de caracteres silviculturais com baixa qualidade.

e) Redução da produtividade nos plantios clonais.

2. Pela utilização da cultura de tecidos, é possível propagar vegetativamente células, protoplastos, órgãos de plantas selecionadas em tubos de ensaio com soluções nutritivas para o crescimento, para que ocorra o desenvolvimento de plantas idênticas geneticamente àquelas doadoras do material a ser propagado.

Qual das alternativas a seguir corresponde corretamente às etapas e à sequência que se desenrola no processo de regeneração *in vitro*:

a) Estabelecimento, inoculação, multiplicação, alongamento e aclimatação.

b) Alongamento, enraizamento, multiplicação, estabelecimento e aclimatação.

c) Multiplicação, alongamento, enraizamento, aclimatação e inoculação.

d) Inoculação, estabelecimento, multiplicação, alongamento e aclimatação.

e) Aclimatação, estabelecimento, enraizamento, alongamento e inoculação.

3. Uma das etapas mais importantes em um programa de melhoramento florestal é o estudo da interação genótipo-ambiente, a qual busca avaliar os genótipos de indivíduos superiores em diferentes locais com características ambientais distintas.

Com base no texto que descreve a interação genótipo-ambiente, assinale qual das alternativas abaixo é a correta:

a) O ambiente é constituído de um conjunto de fatores genéticos que limitam a sobrevivência de determinados genótipos em alguns ambientes.

b) A interação não pode ser afetada por diversos fatores imprevisíveis.

c) Os fatores imprevisíveis não podem afetar o desempenho de genótipos em determinados ambientes.

d) A interação não pode ser afetada por diversos fatores previsíveis.

e) Um mesmo genótipo responderá diferentemente em ambientes distintos.

Referências

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002.

BORÉM, A. **Hibridação artificial de plantas**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009.

_____. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005.

_____; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013.

GOMES, A. L. **Propagação clonal**: princípios e particularidades. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. (Série Didática, Ciências Aplicadas, 1).

KERBAUY, G. B. **Clonagem de plantas *in vitro***. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília, v. 1, n. 1, p. 30-33, maio 1997.

MORI, E. S.; LELLO, L. R. B.; KAGEYAMA, P. Y. Efeitos da interação genótipo x ambiente em progênies de Eucalyptus saligna Smith. **IPEF**, Piracicaba n. 33, p. 19-25, 1986. Disponível em: <http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr33/cap02.pdf>. Acesso em: 6 dez. 2016.

PINTO, R. J. B. **Introdução ao melhoramento genético de plantas**. Maringá: EDUEM, 1995.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 5. ed. Lavras: UFLA, 2012.

_____. **Competências em melhoramento genético de plantas no Brasil**. Viçosa: UFV, 2010.

RESENDE, M. D. V. et al. Seleção recorrente e o melhoramento genético do eucalipto no Brasil. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2000, Lavras-MG. **Anais**... Lavras-MG: UFLA, 2000. p. 59-84. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/36962/1/selecao-recorrente-e-o-melhoramento-genetico-doeucalipto-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2016.

_____; HIGA, A. R. **Estratégias de melhoramento para eucaliptos visando a seleção de híbridos**. Colombo: Boletim de Pesquisa Florestal, n. 21, p. 49-60, dez. 1999.

ISBN 978-85-8482-854-8