



Como produzir alimentos transgénicos com maior valor nutritivo

Marta Vasconcelos

UTAD, 5 de Maio de 2010

A melhor forma de evitar deficiências nutricionais é ter uma dieta variada, rica em vegetais, frutas e produtos animais



A segunda melhor abordagem, especialmente para aqueles que não têm possibilidade de fazer uma dieta variada, é a de comer alimentos densos em nutrientes

“Biofortificação”

Estratégia sustentável que visa aumentar teor em Zn, Vit A e Fe

Biofortificação

Fortificação:

- Enriquecimento de alimentos durante a **colheita** ou **processamento** de forma a aumentar o conteúdo nutricional

Biofortificação:

- Utilização de variedades melhoradas que têm a capacidade de **absorver**, **repartir**, e/ou **sintetizar** maiores níveis de nutrientes durante o seu **crescimento**, de forma a que os produtos colhidos tenham conteúdos nutricionais mais elevados.

Deficiência em micronutrientes

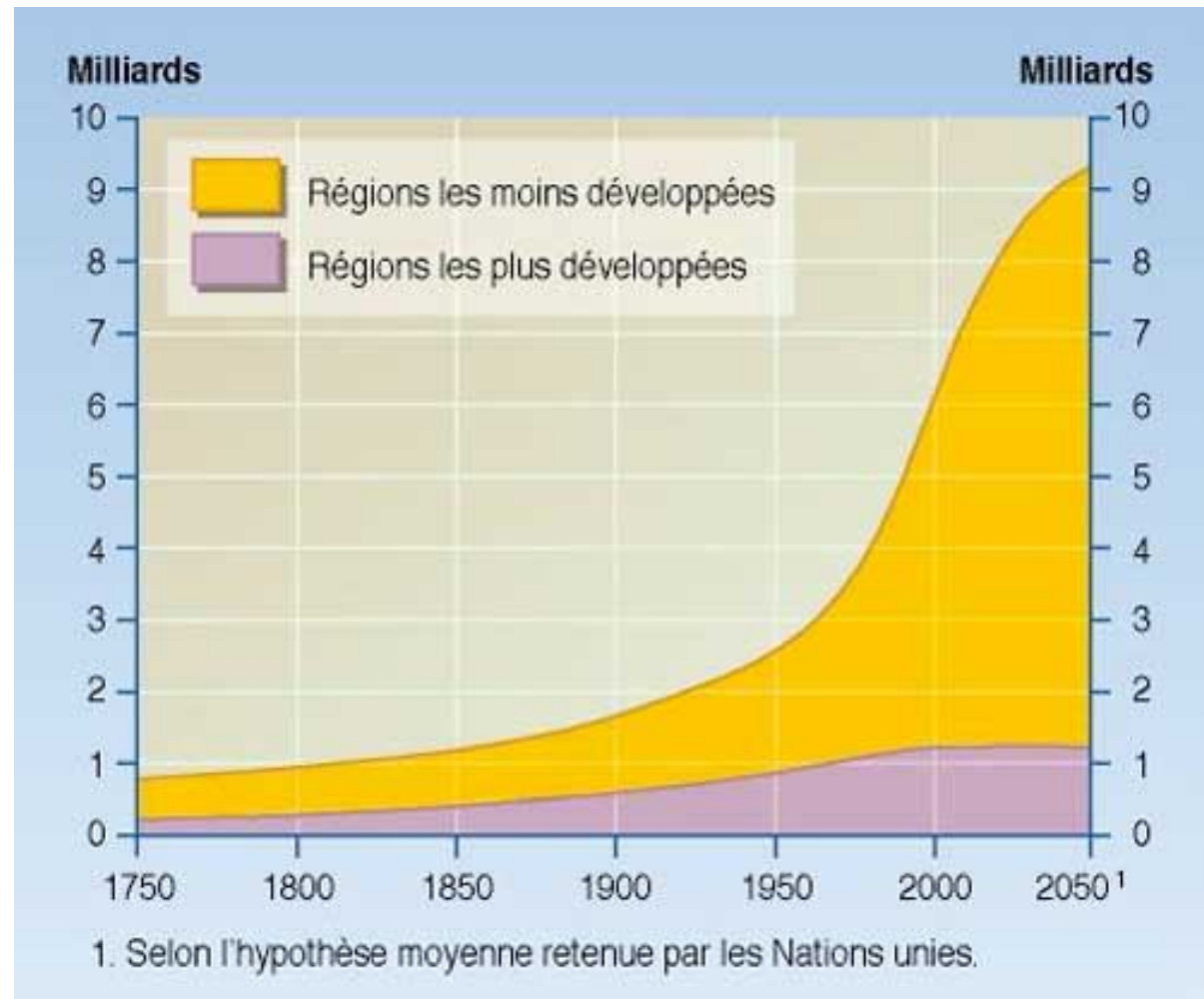
Fe: 33 a 50% da população em risco.

Zinco: ?????????? (mesmo que Fe?)

Vitamina A: 250 milhões pessoas com deficiência

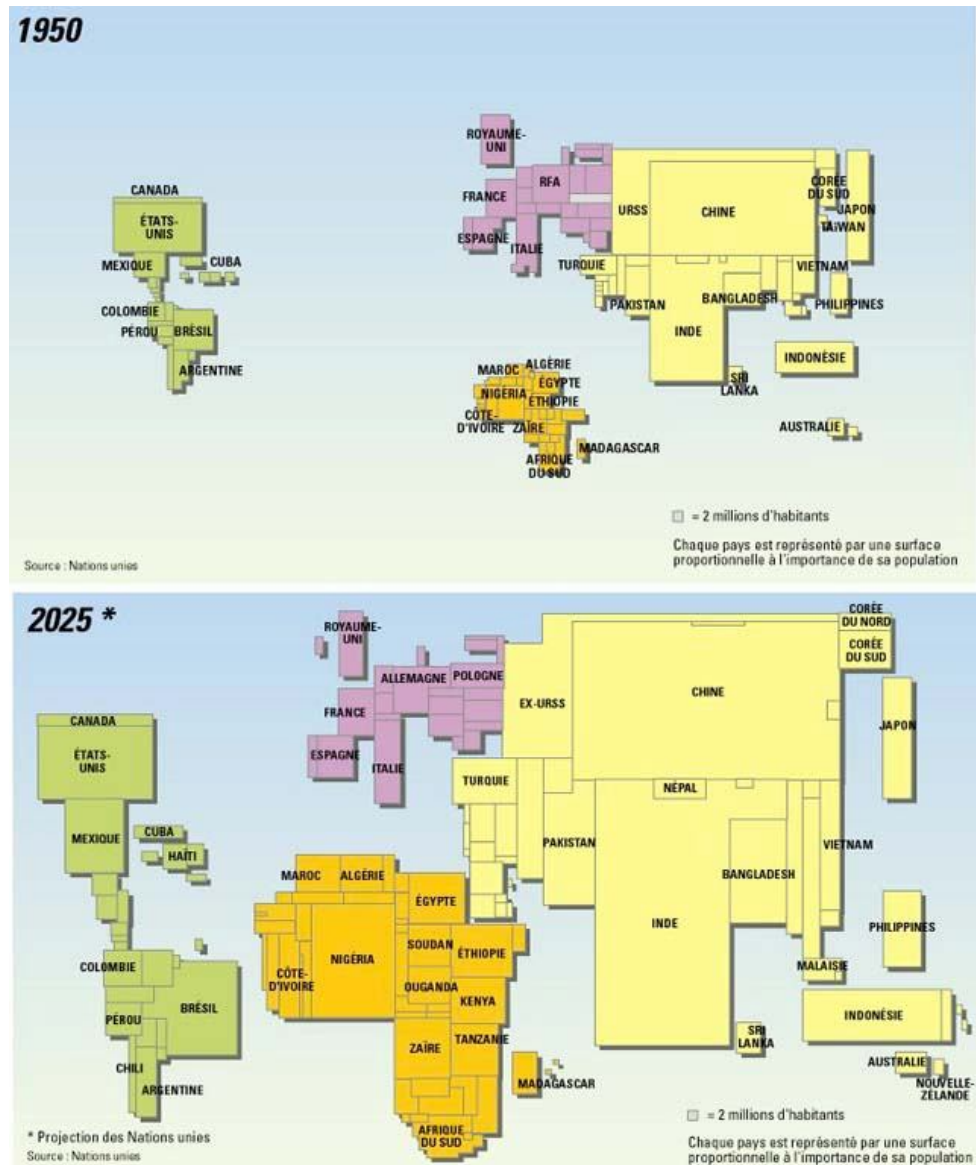
Iodo: 38% da população em risco

Crescimento populacional: países desenvolvidos vs. países em desenvolvimento

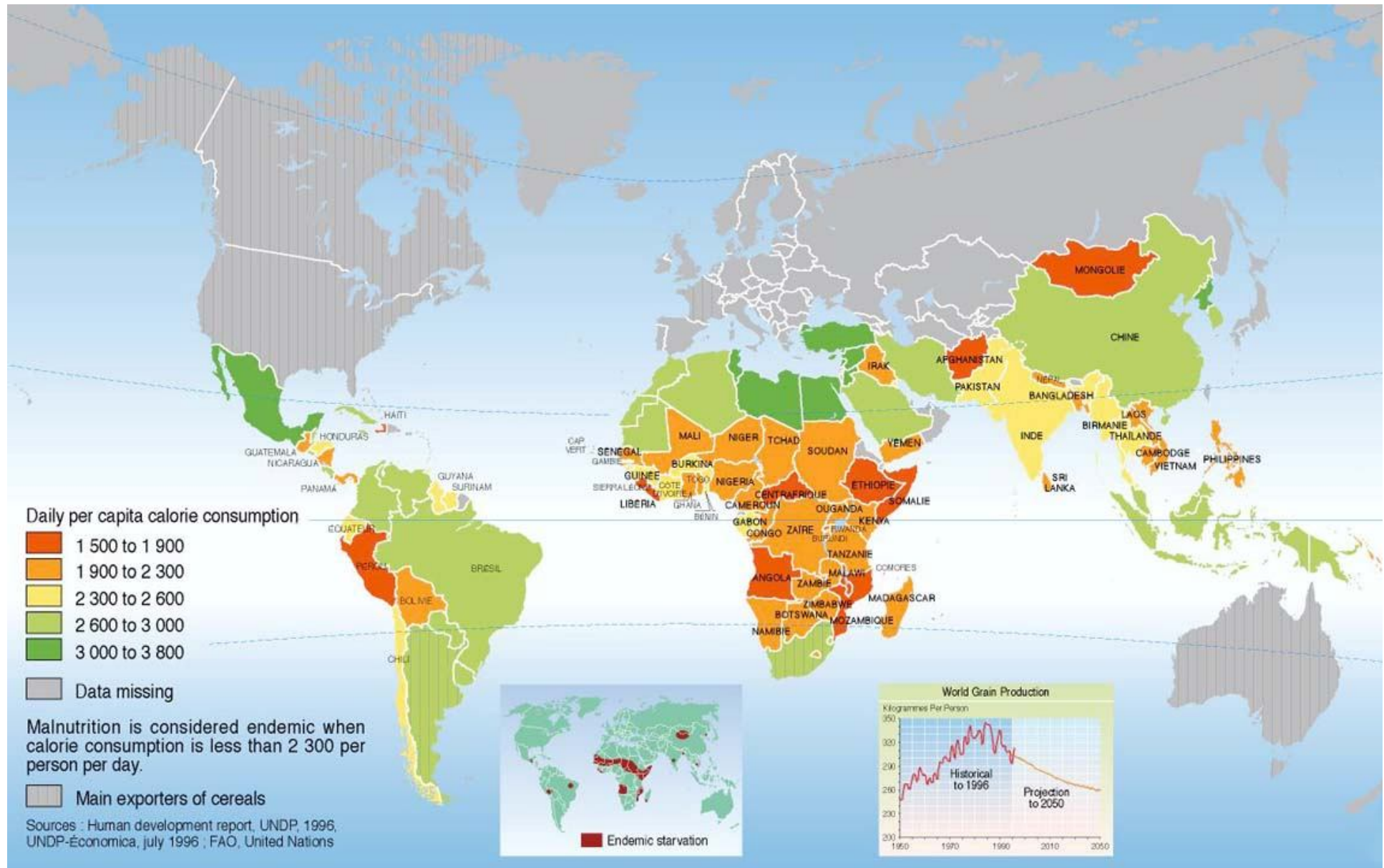


Source : *World population 1998, The World at Six Billion* (octobre 1999) et *World Population Prospects: The 2000 Revision*, (février 2001), Nations unies, Département des affaires économiques et sociales, Division de la population, New York.

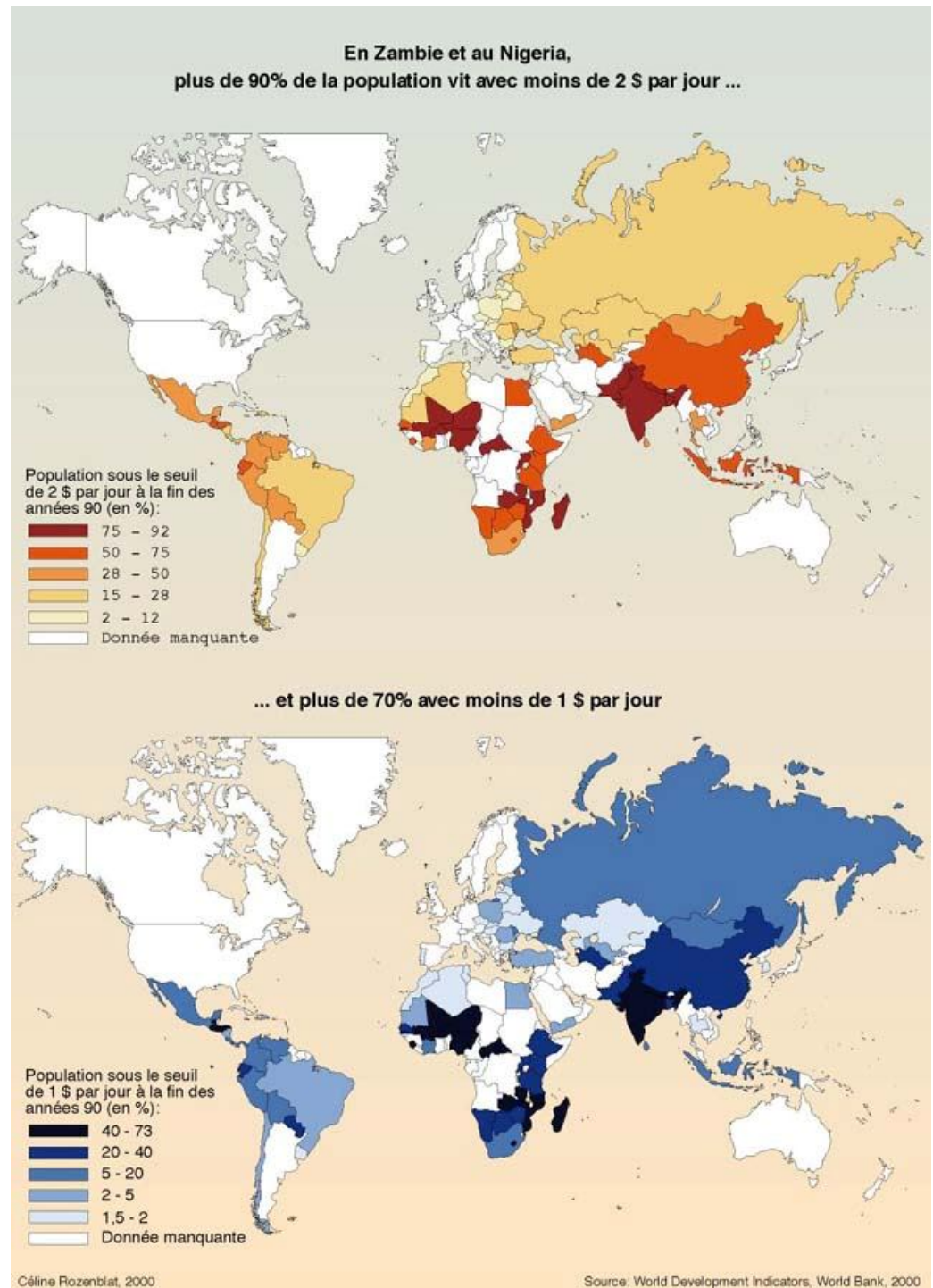
População mundial, 1950 e 2025



Consumo de calorias e fome no mundo



Linha de probreza: % população que vive com menos de 2 e 1 USD por dia



Alimentos mais nutritivos

Hibridação convencional

Biodisponibilidade

Fortificação

Económico-social

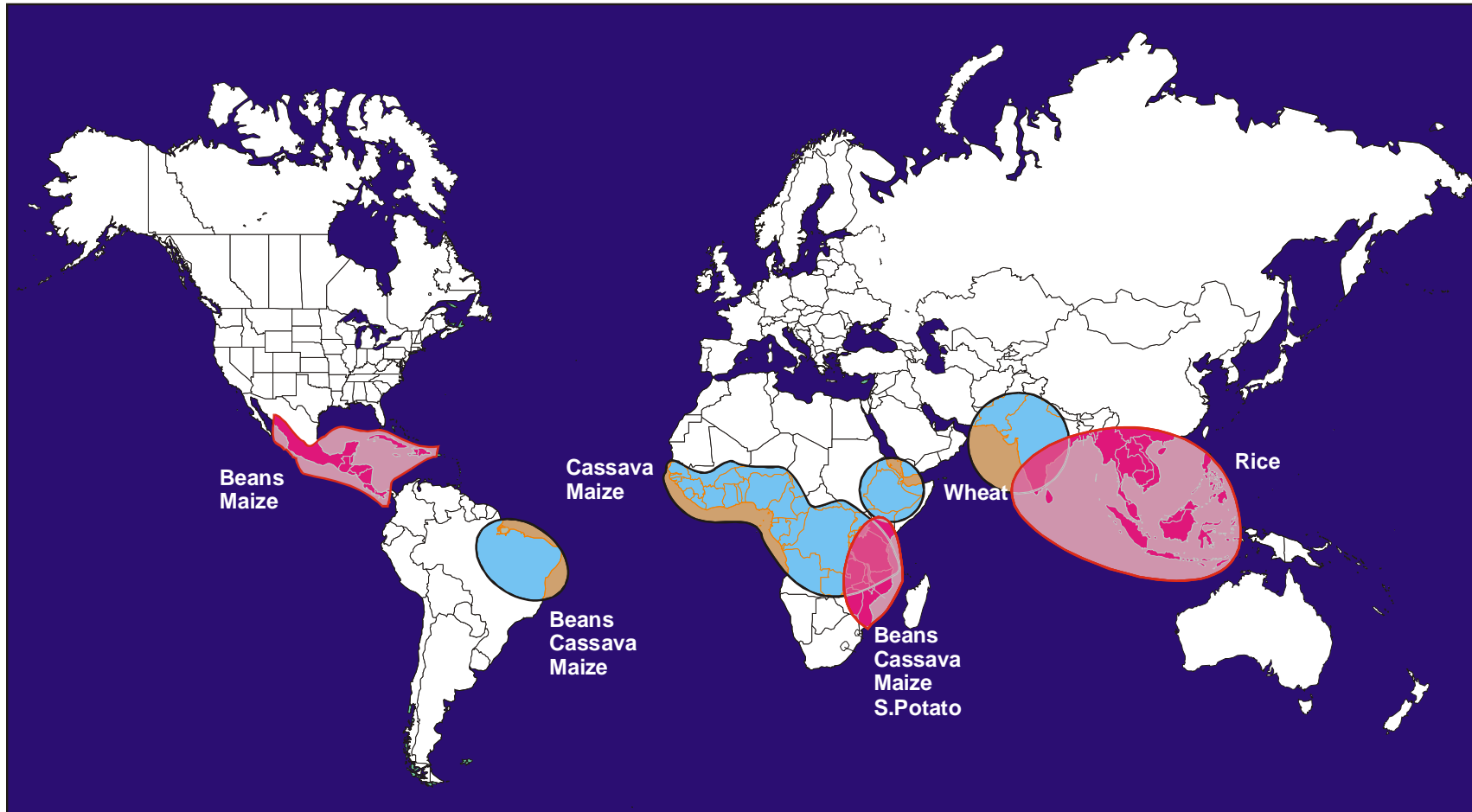
Educação/disseminação

Genómica nutricional/engenharia genética

Alimentos base

	Fe Conc. (mg/kg)	Zn Conc. (mg/kg)	Beta-caroteno (mg/kg)
Arroz integr.	6 - 25	14 - 59	0 - 1
Arroz polido	1 - 14	14 - 38	0
Trigo	10 - 99	8 - 177	0 - 20
Milho	10 - 63	12 - 58	0 - 10
Feijão	34 - 111	21 - 54	0
Cassava	4 - 76	3 - 38	1 - 24

Biofortificação: Impacto



Áreas regionais com impacto potencial

**Quais os processos
metabólicos críticos e
como podem ser
manipulados para
aumentar o conteúdo
nutricional em alimentos
vegetais?**

Aquisição ferro raízes (Dicot)

Apoplasto

Simplasto

Fe(III)-chelate

Reductase (FRO)

e^-

chelate

Transporter (IRT)

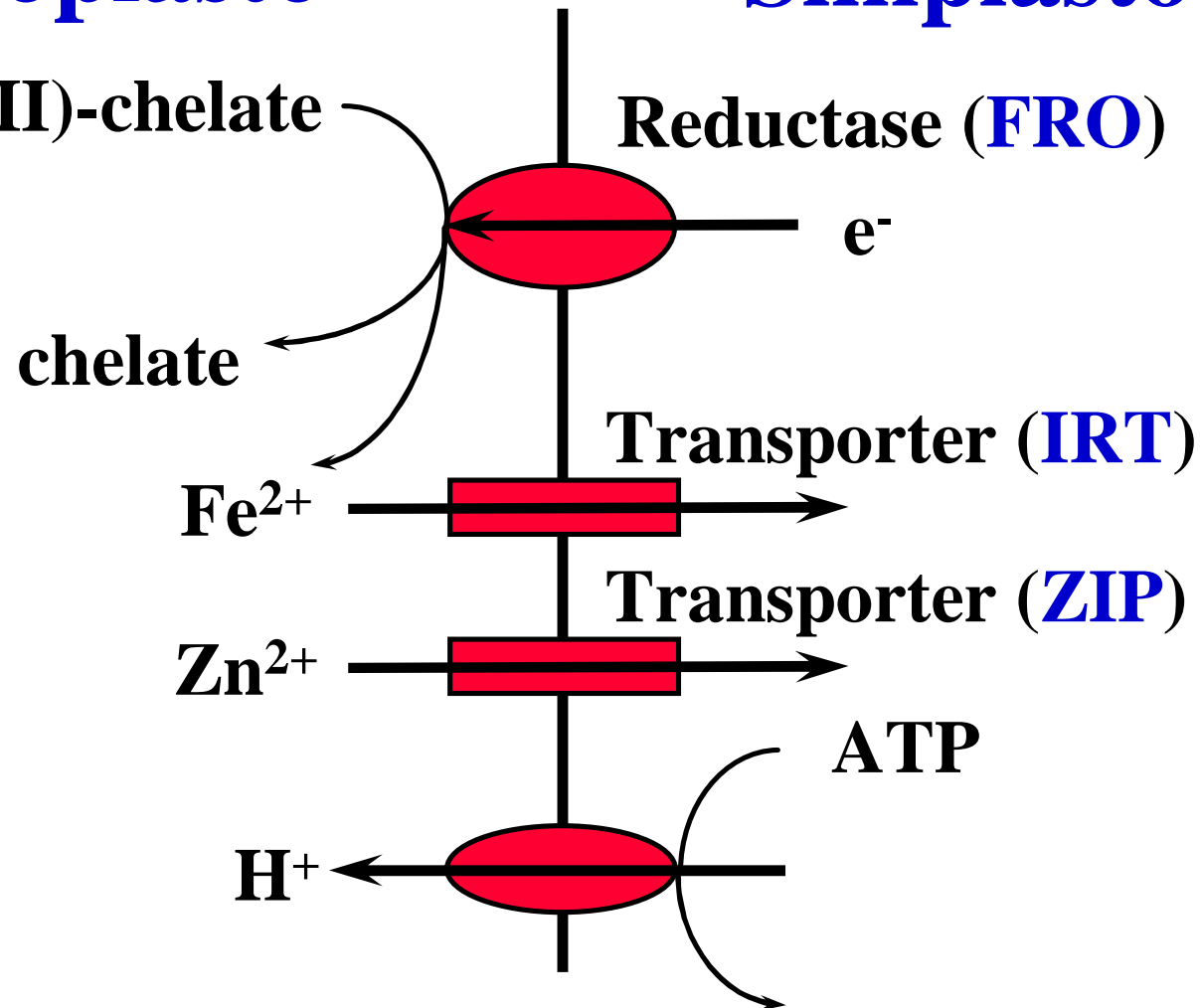
Fe²⁺

Transporter (ZIP)

Zn²⁺

ATP

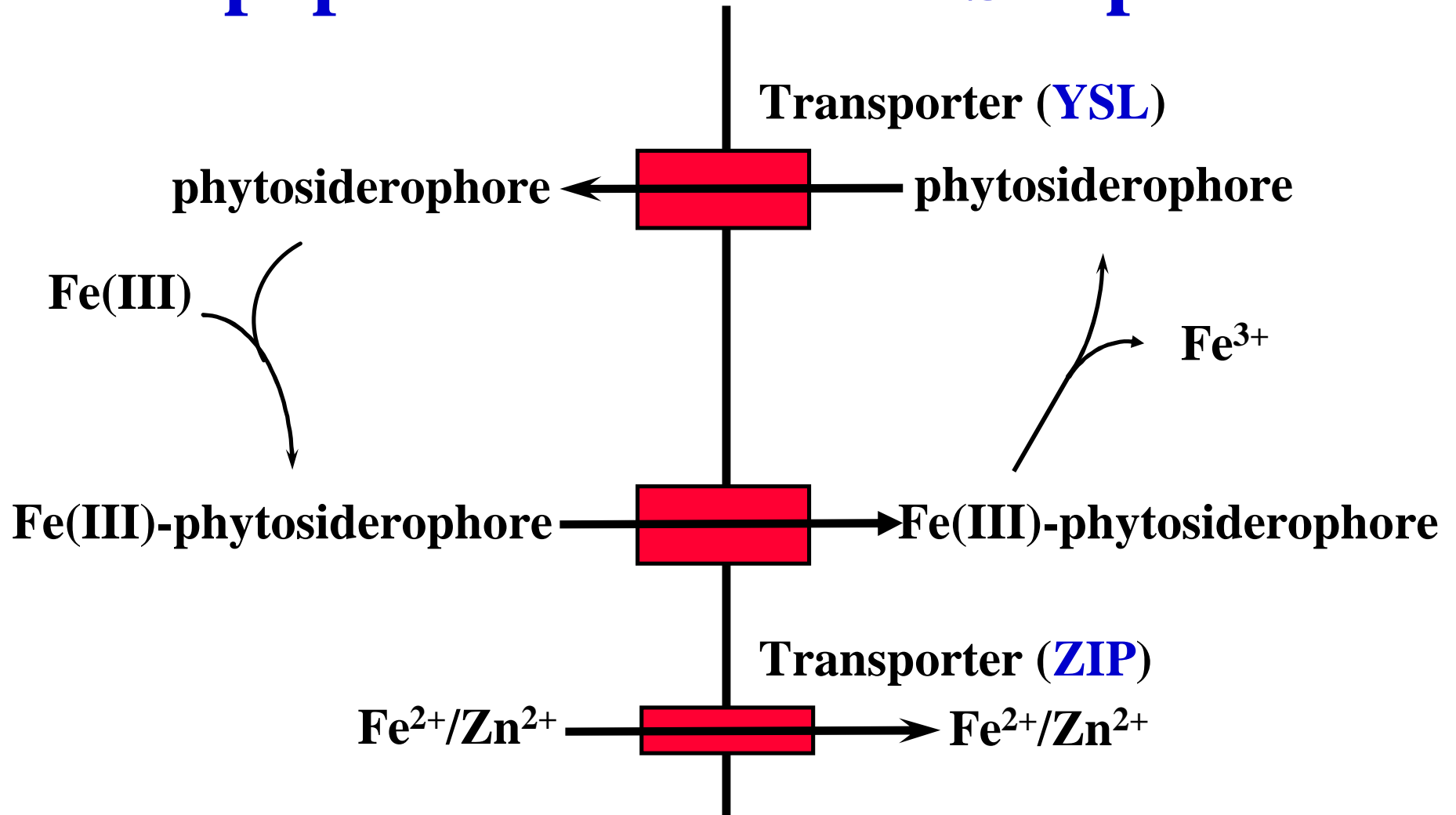
H⁺



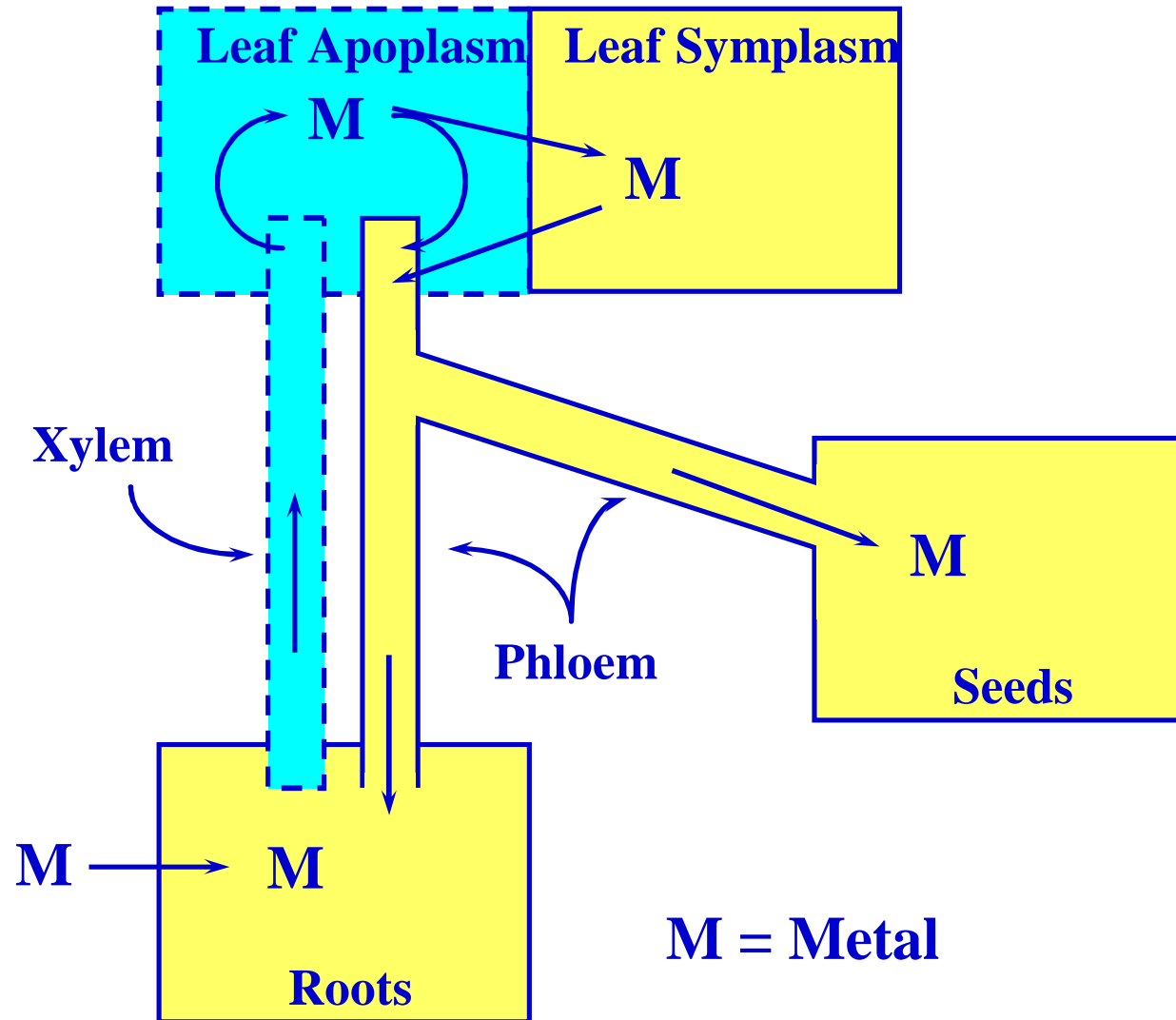
Aquisição ferro raizes (herb)

Apoplasto

Simplasto



Percursos de transporte mineral na planta



Famílias de genes importantes nas plantas para nutrientes minerais

- **Biosynthetic genes**
 - Phytosiderophores, Nicotianamine
- **Divalent metal transporters**
 - ZIPs, NRAMPs, CE (cation efflux) family, etc.
- **Metal-chelate transporters**
 - YSL (Yellow-Stripe Like) family members
- **Metal storage**
 - Ferritin

Alimentos transgênicos: alguns exemplos práticos

- Biofortificação de alimentos através da biotecnologia
 - Arroz com ferro
 - Arroz dourado
 - Soja (*Glycine max*)



Aumento da concentração de ferro e zinco em arroz transgênico





Arroz (*Oryza sativa* L.)

- Alimento mundialmente mais consumido (2/3 da população)
- Cresce em muitos tipos de habitat
- Portugueses: Maiores consumidores europeus de arroz





O arroz modificou a cultura, a dieta, e economia de milhões de pessoas: o arroz é mais do que um alimento

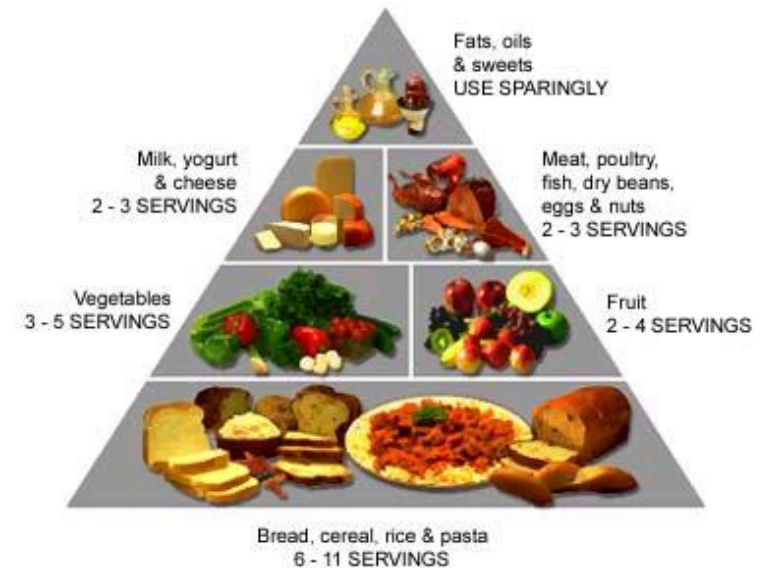




Ferro

Deficiência em ferro

Afecta **30%** da população mundial



Maior carência nutricional mundialmente



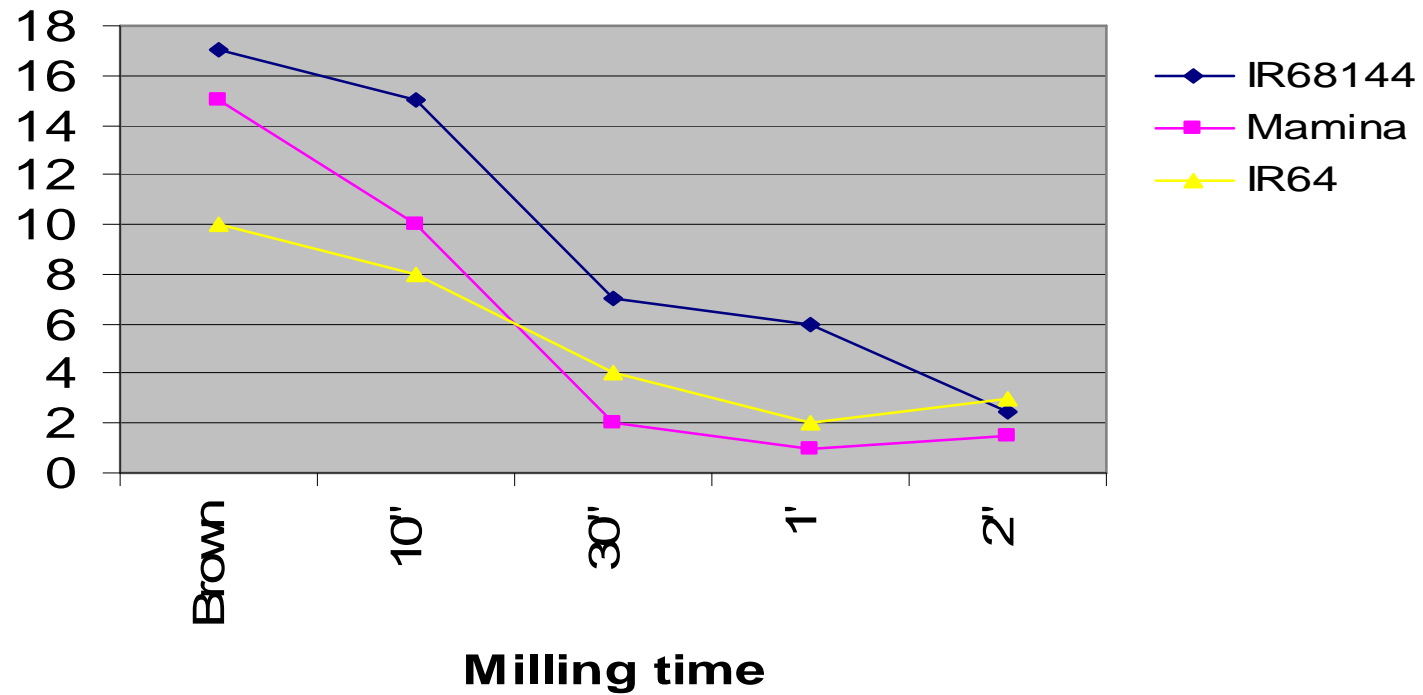
Sintomas

- Fadiga, fraqueza, falta de ar, palidez
- Redução das capacidades cognitivas
- Aumento do risco de morte durante gravidez



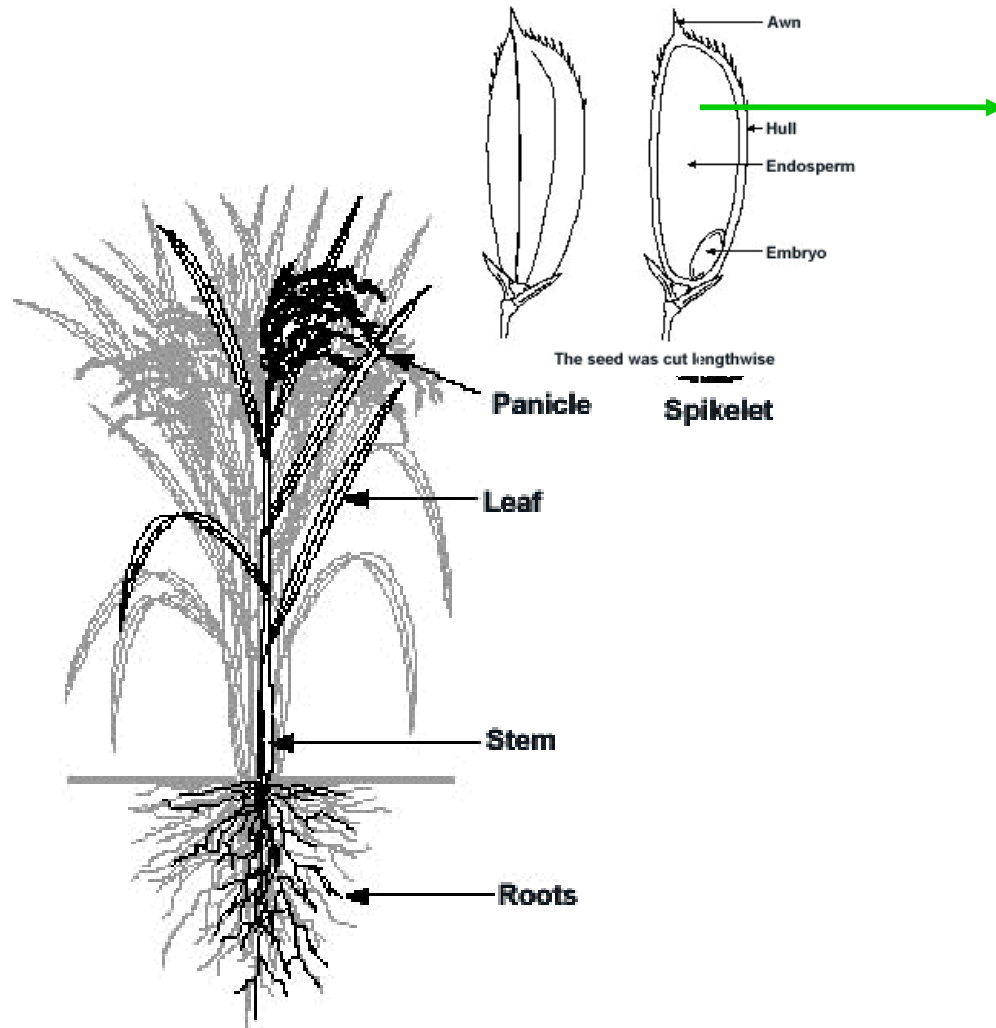
O problema

- O grão de arroz é pobre em ferro





O objectivo

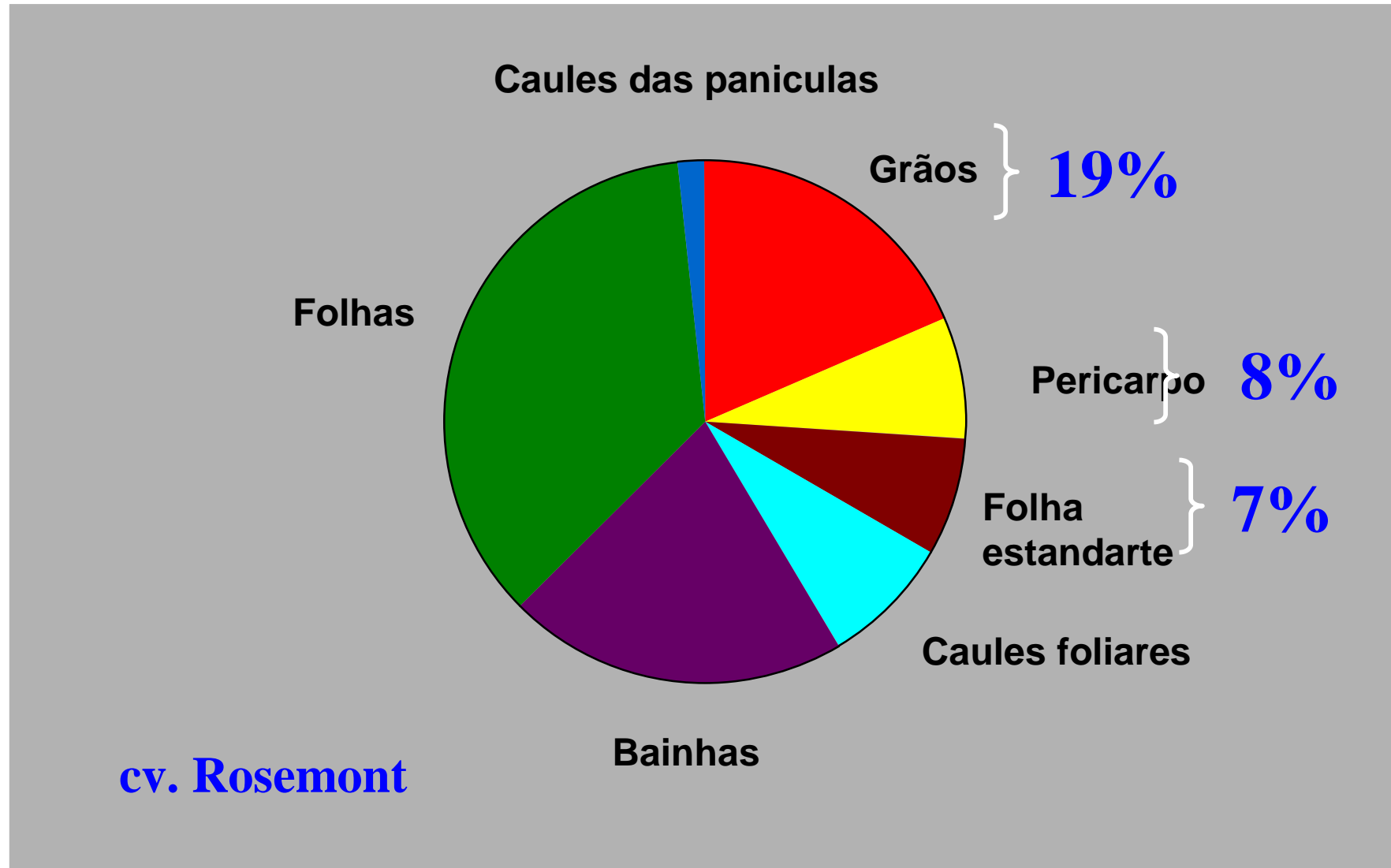


- Aumentar a nutrição em ferro

**Os minerais devem ser
adquiridos do solo,
transportados e acumulados
nos tecidos comestíveis**



Distribuição do ferro nas partes aéreas



Transporte de nutrientes para as panículas



Grão de arroz

O ferro é mobilizado para as sementes com os açúcares, amino ácidos e outros minerais.

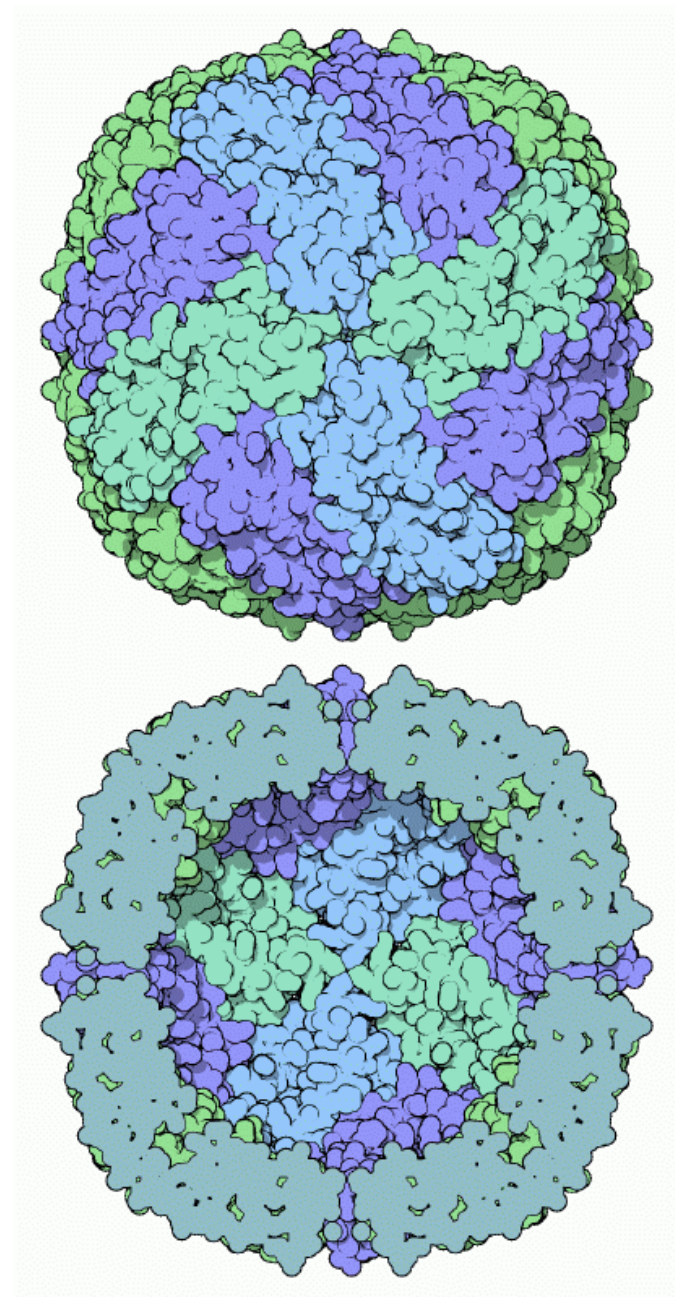
Folha estandarte



Ferritina : Acumula até **4500**
moléculas de ferro

Estratégia ?

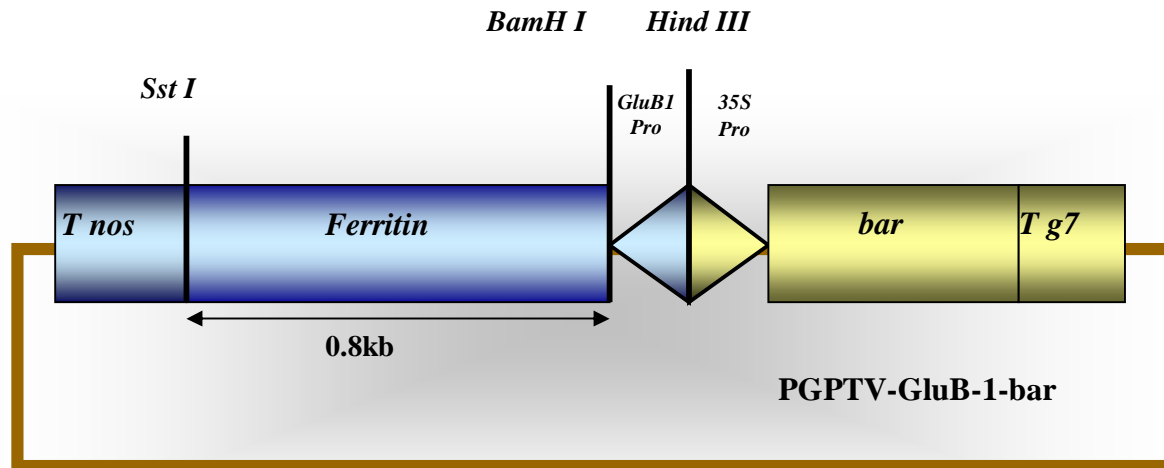
- 1. Identificar uma variedade**
- 2. Introduzir o gene da ferritina com promotor de endosperma**
- 3. Obter linhas homozigotas**
- 4. Analisar teor em micronutrientes**

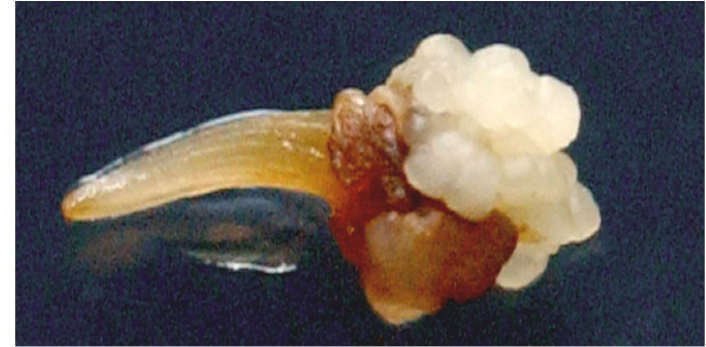
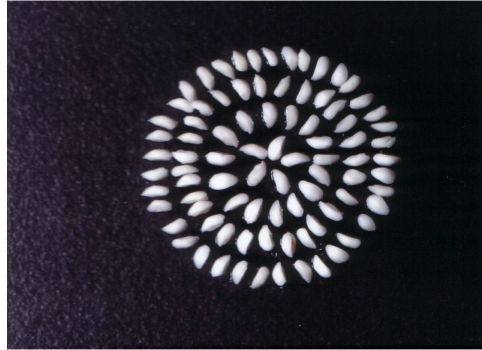
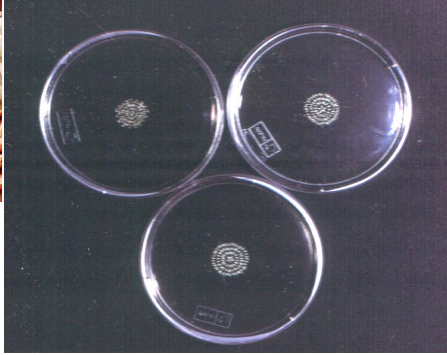




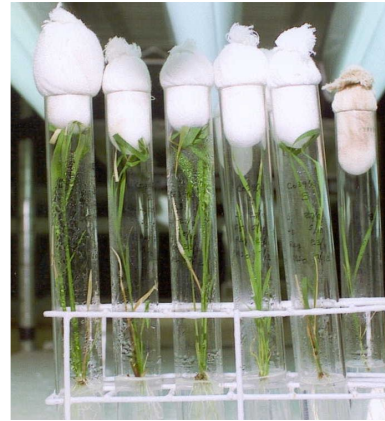
Transformação

Bombardeamento de partículas em embriões de arroz



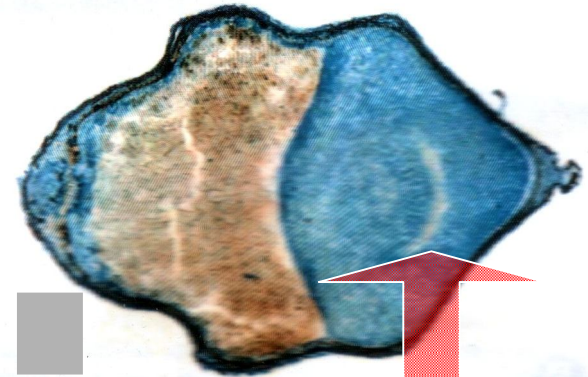
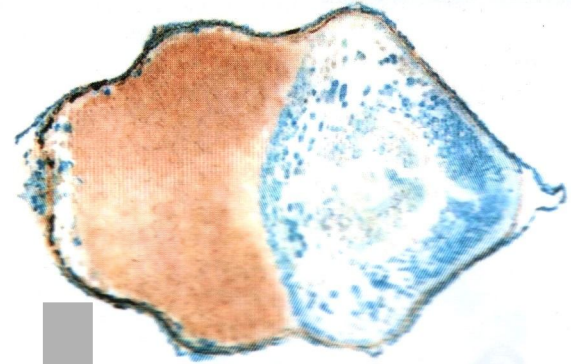
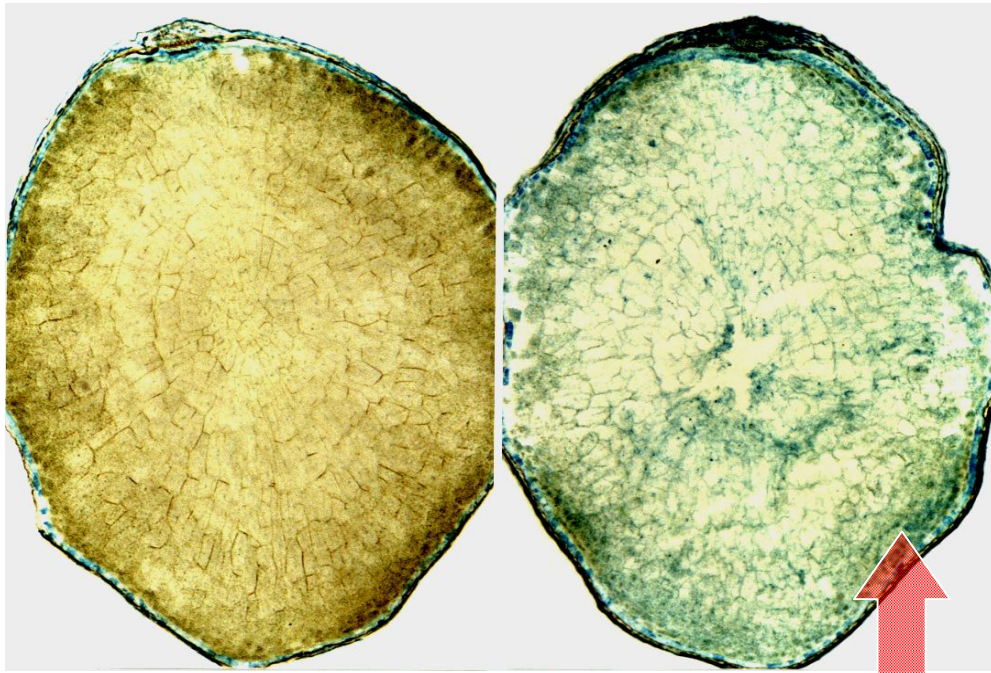


Passos gerais na transformação genética do arroz





Resultados



Côr azul localiza o ferro



Resultados

- Arroz transgênico 3X mais rico em ferro e zinco, mesmo depois de polimento comercial dos grãos
- O ferro neste arroz é biodisponível
- Este material pode colmatar deficiências nutricionais graves, especialmente em países em desenvolvimento- e.g. Moçambique

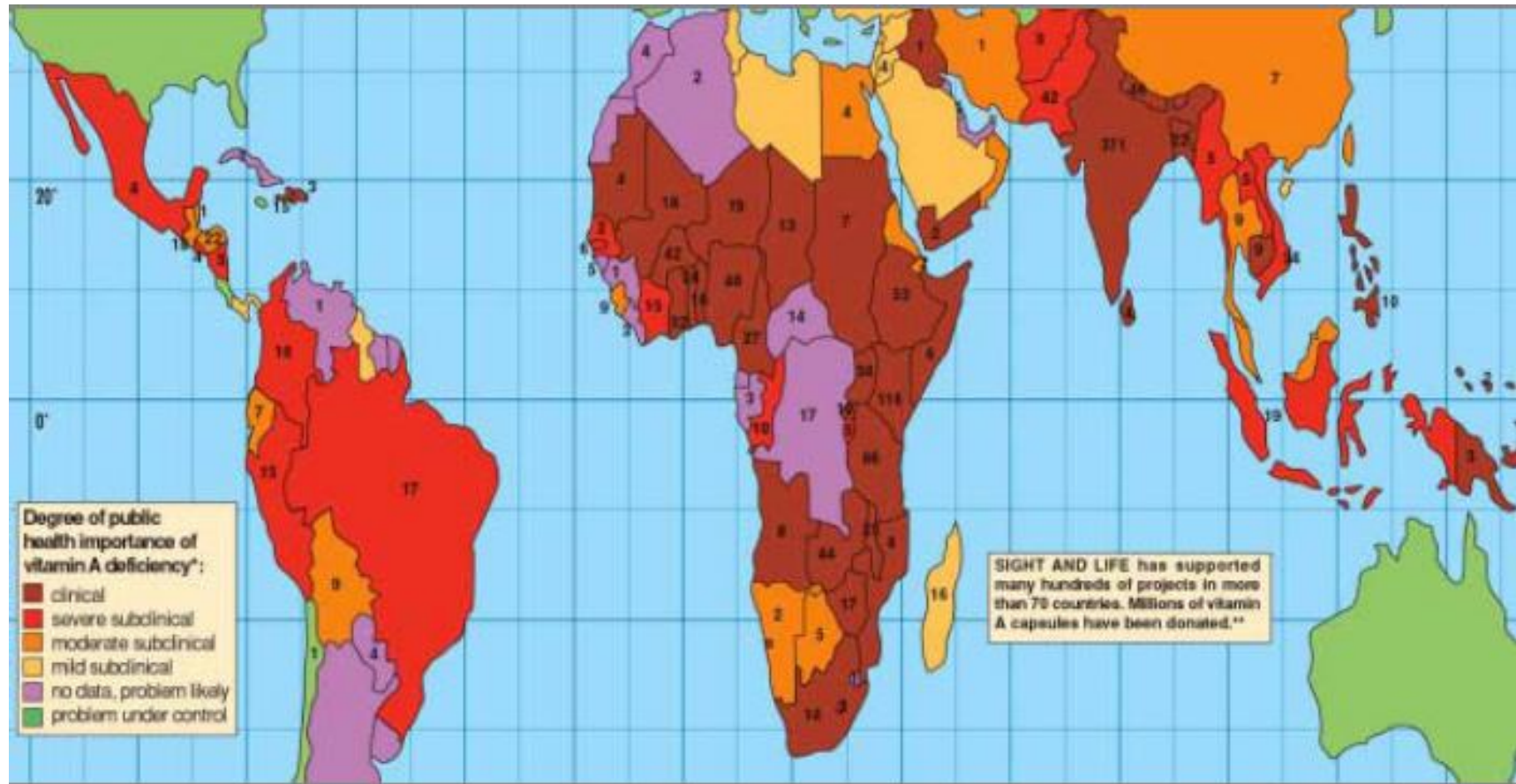


Arroz dourado



“Todos nós precisamos de vitamina A, mas as crianças são as mais susceptíveis à sua deficiência. O RDA para crianças dos 1-3 anos é de 300 μg por dia. Fornecer metade desta quantidade manteria um nível saudável desta vitamina no sangue.”

Deficiência em Vitamina A



Fertilidade

Crescimento ósseo

Hematopoiese

Visão

Resposta imune

Embriogénese

...

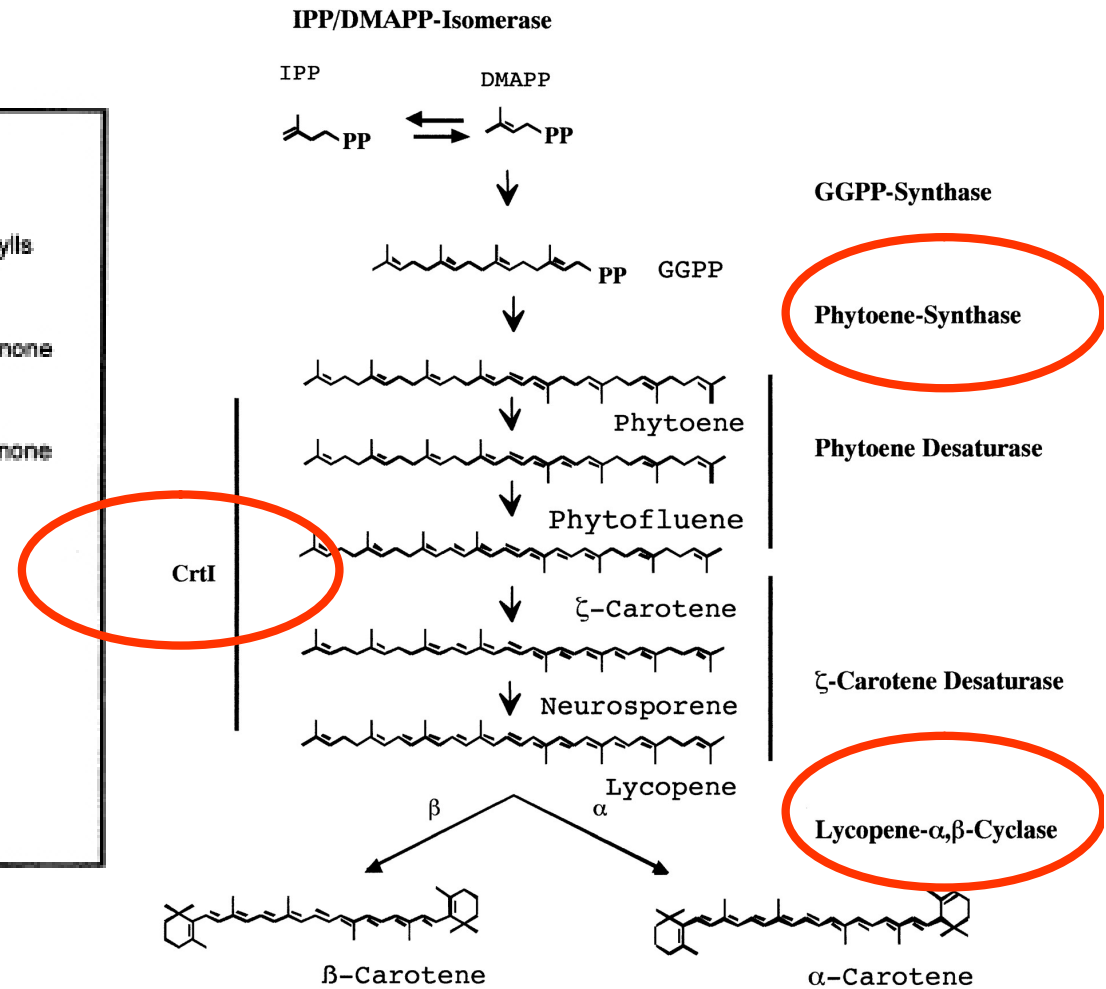
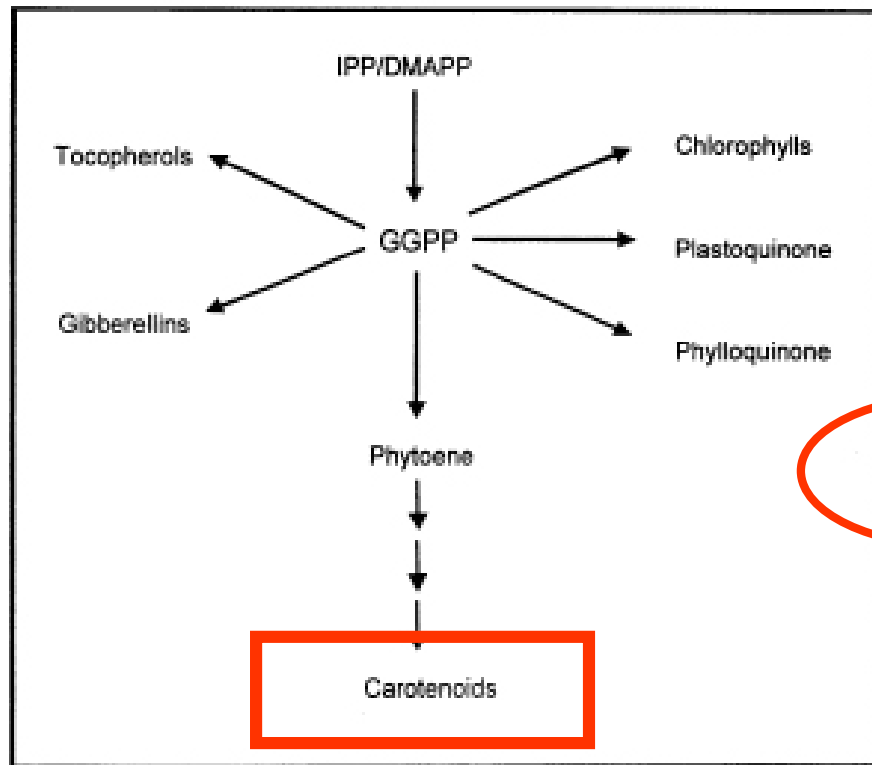


Arroz dourado

- Arroz: não produz β -caroteno (provitamina A) naturalmente, apenas nos tecidos verdes.
- Apesar dos genes estarem presentes na semente, alguns estão “desligados” durante o desenvolvimento
- Em sociedades que consomem muito arroz, a falta de Vit A reflecte-se em cegueira, susceptibilidade para doenças e morte infantil prematura



A estratégia



Arroz dourado 1

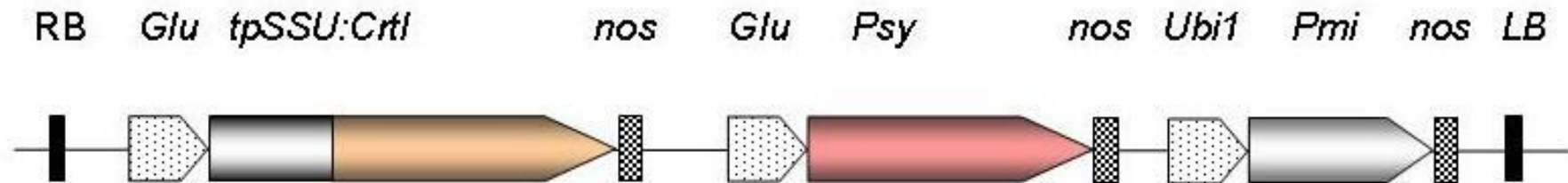
1.6 $\mu\text{g/g}$





Arroz dourado 2

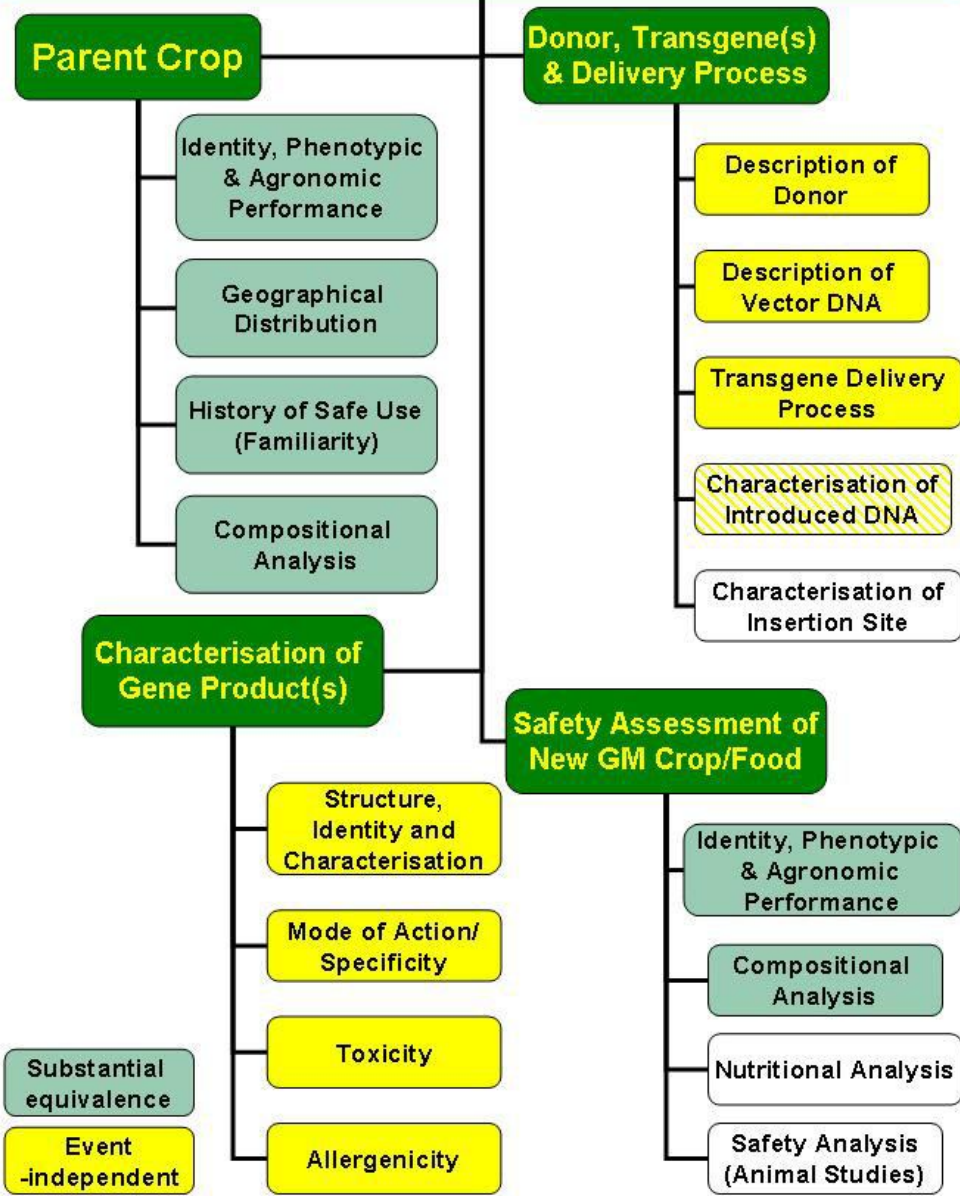
37 $\mu\text{g/g}$





<http://www.goldenrice.org/index.html>

Safety Assessment of GM Food





Implicações

O RDA de vitamina A para uma criança de 1-3 anos é **300 µg**

½ do RDA seria fornecido por 72 g da nova geração de arroz dourado

O arroz dourado será fornecido aqueles que dele precisam sem custos associados





Aumento nutricional em soja transgênica com gene *AtFR02*

Leguminosas

- Ricas em ferro, vitaminas e proteínas



Nutrição da soja

- 14% Água
- 15% HC solúveis
- 15% Fibra
- 38% Proteína
- 18% Lípidos (Nos EUA, 80% do consumo)



A soja é boa fonte de Fe, Ca, Zn, P, Mg, B, vitaminas e ácido fólico

Soja (*Glycine max.*)

- China: 2838 A.C.
- Arroz, trigo, cevada e centeio
- França: 1740 D.C.
- Inglaterra: 1790 D.C.
- Estados Unidos: séc. XIX
- Fonte essencial de proteína e óleos, tanto na produção animal (preto e castanho) como na alimentação humana (amarelo e verde), com múltiplas aplicações.



Utilizações da soja

alimentares

- Grão
- Tofu
- Miso
- Farinha
- Pão
- Doces
- Ração
- Bolachas
- Tartes
- Café
- Manteiga
- Leite
- Rebentos
- Óleo
- (...)

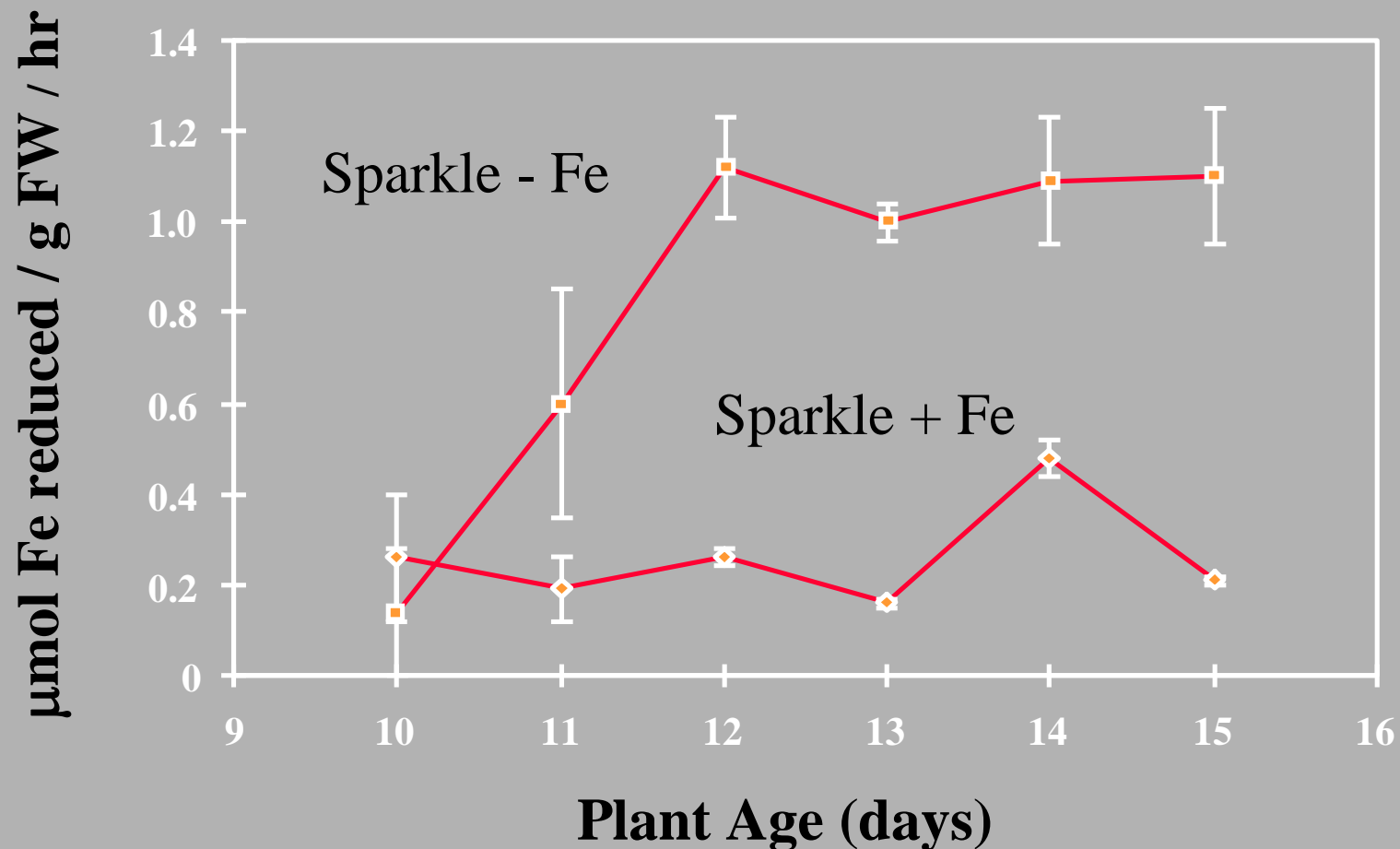
alternativas

- Lápis
- Plásticos
- Tintas
- Têxteis
- Biodiesel
- Insecticidas
- Papel
- Borrachas
- Cosméticos
- Agentes anti-corrosivos
- Espumas anti fogo
- Isolamento eléctrico
- Agente controlador de poeiras
- Sabonetes/Shampôs
- (...)

Os problemas

1. Cresce mal em solos deficientes em ferro (30% do solo mundial)
2. Baixa absorção do ferro limita a quantidade que vai para os grãos

A deficiência em ferro regula a actividade da reductase



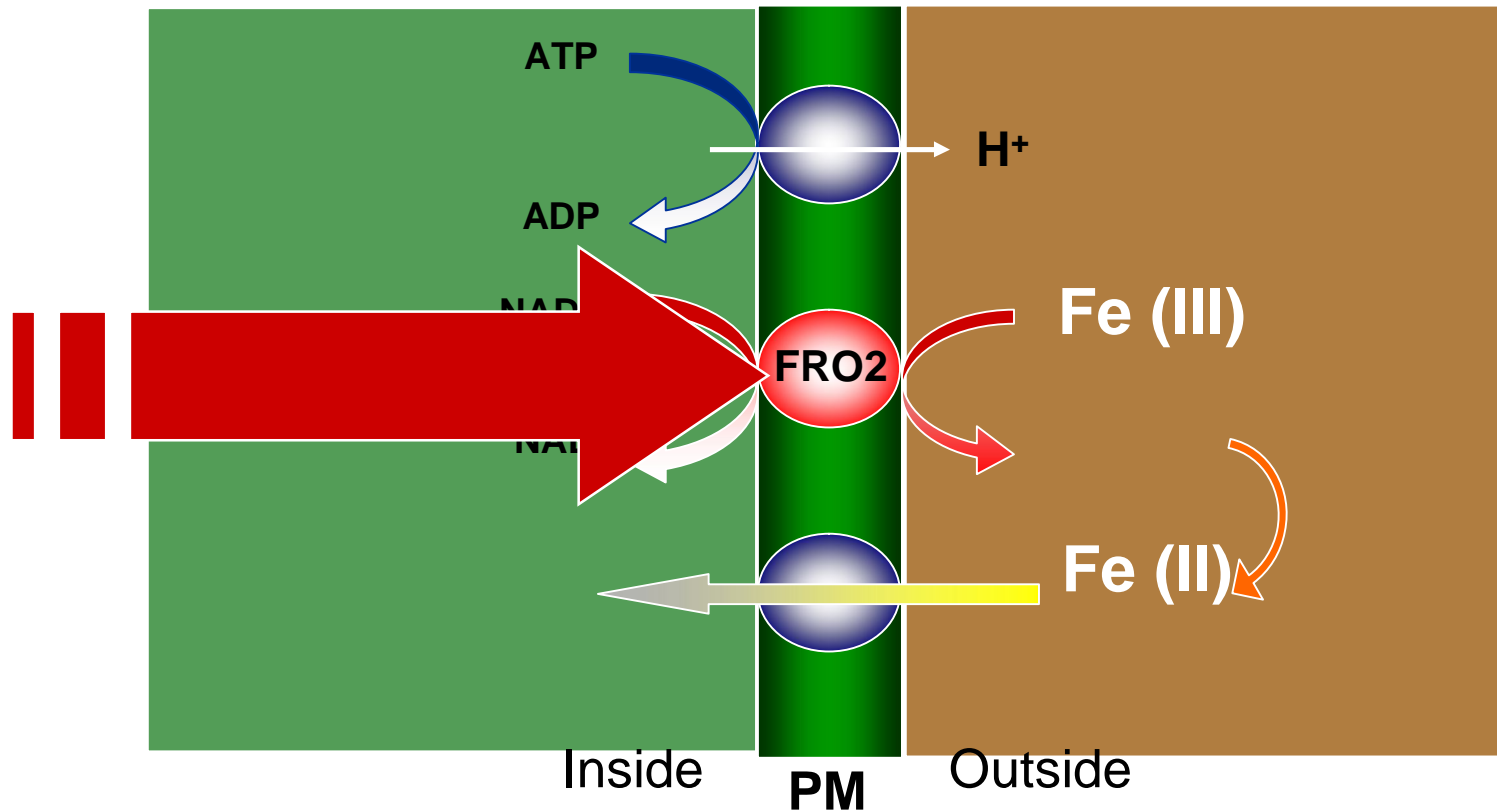
Objectivo

- Aumentar a absorção e acumulação de ferro na soja



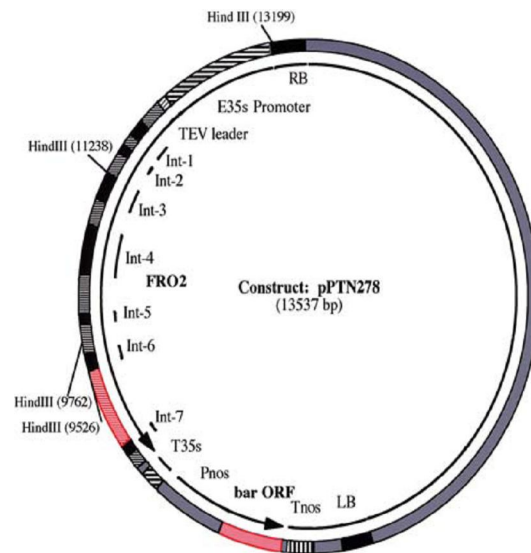
Estratégia

- Utilizar gene *AtFRO2* com um promotor constitutivo

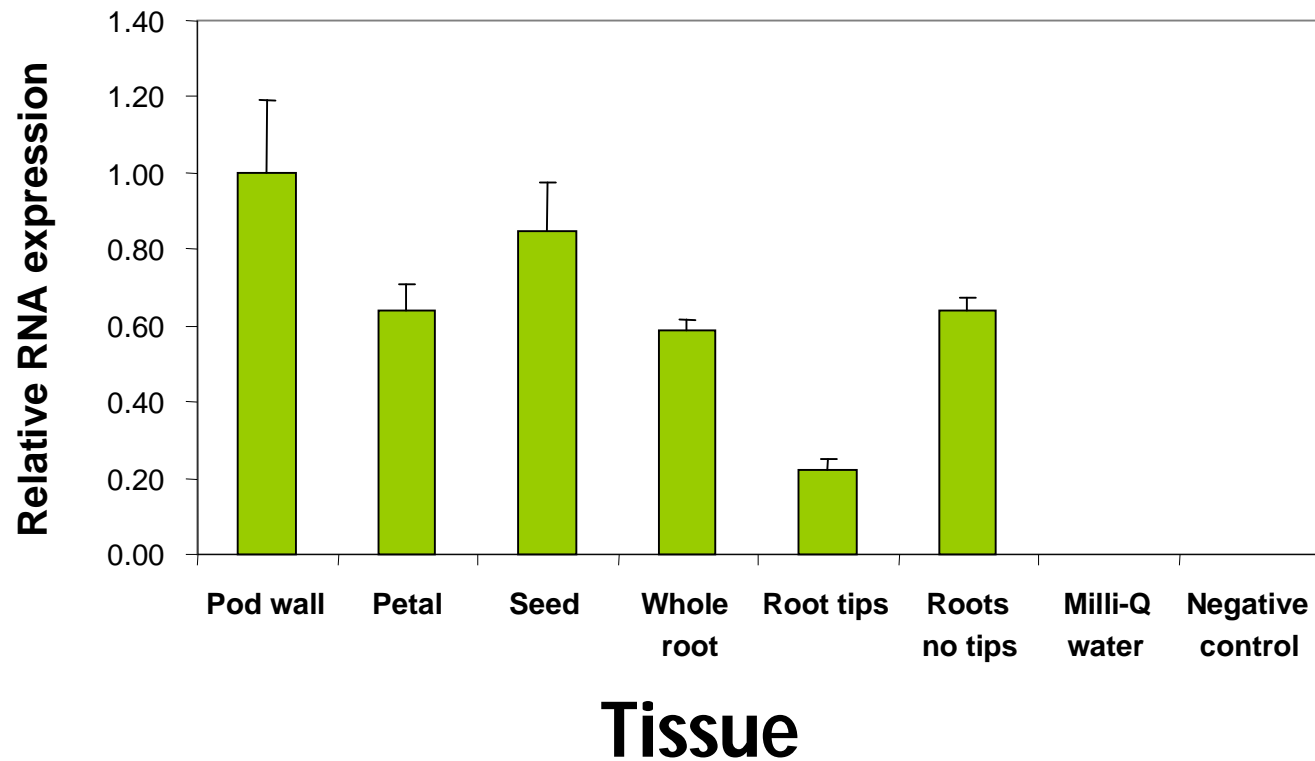


Materials

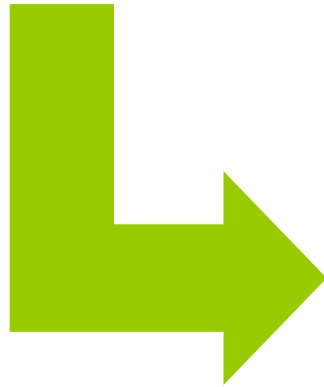
Agrobacterium transformation of soybean with *AtFRO2* gene
38 transgenic lines with ***AtFRO2* (2 parental lines)**



Expressão de *AtFRO2* em diferentes tecidos



Ensaio solúvel para quantificação de actividade

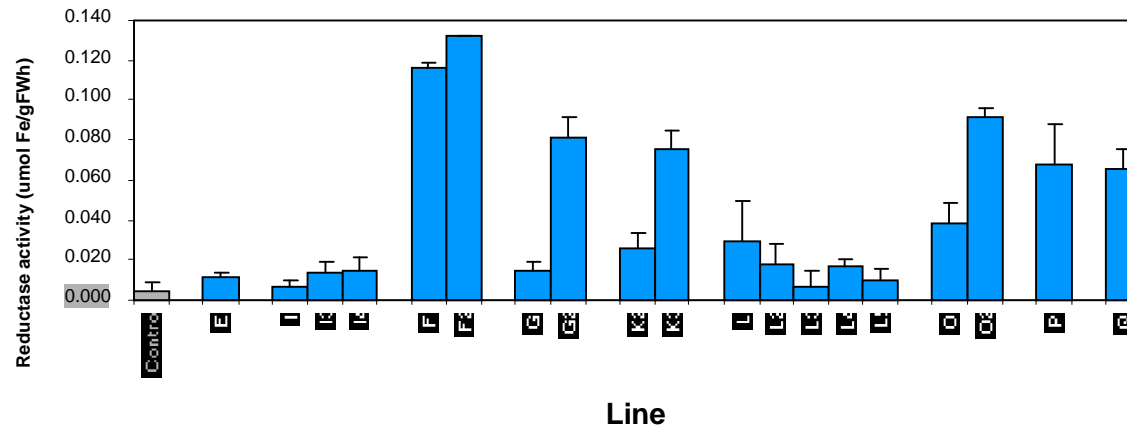


Reductase:
$$\frac{\text{Av. Abs}_{535} \times \text{Vol. Sol}/1000}{0.02214 \times \text{Root FW} \times \text{Assay min}/60} = \mu\text{mol Fe/ g FW h}$$

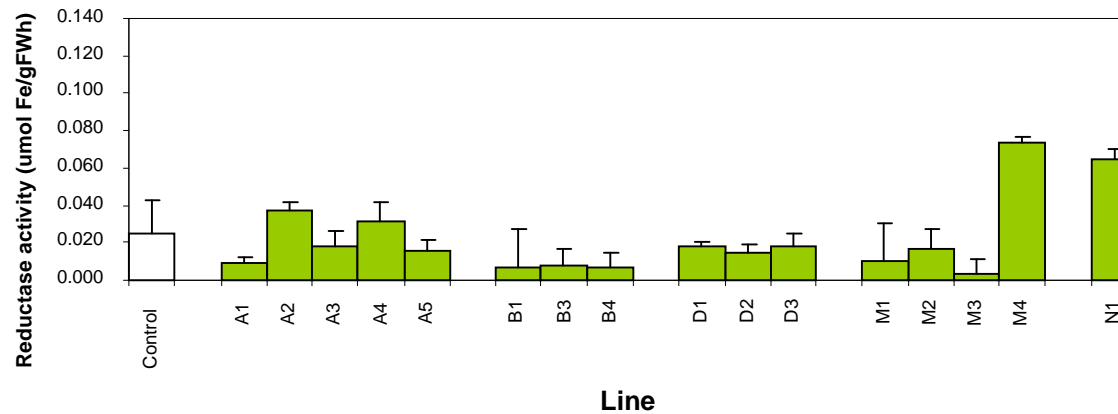


Actividade redutora

392-3 line: 23
X higher
activity vs.
control



Parental
line
Thorne

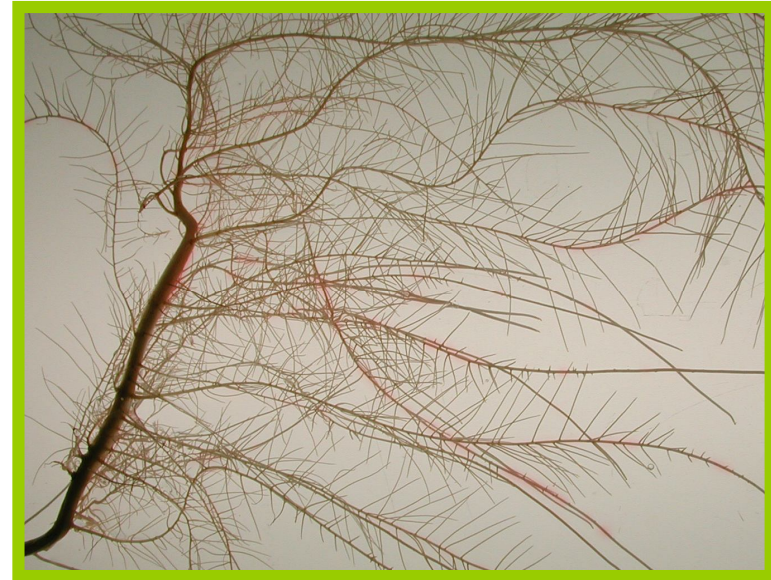


Parental
line A32

Localização de actividade redutora



392-3



Control

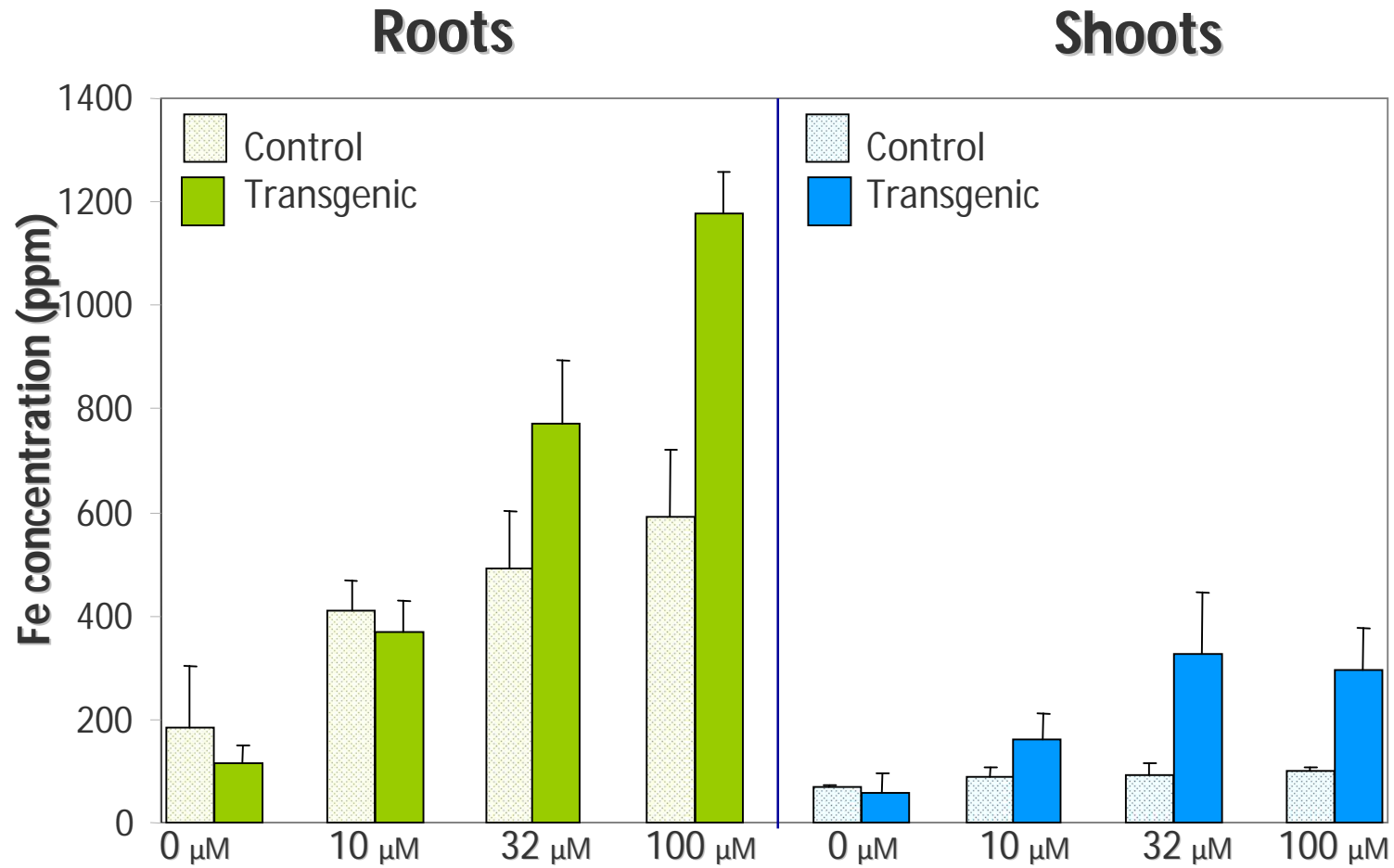


Nutrientes no Xilema

Mineral (μM)	392-3	Wild-type
Fe	98 \pm 5	86 \pm 20
Mn	2.9 \pm 0.5**	0.9 \pm 0.3
K	9606 \pm 560*	7395 \pm 463
P	1303 \pm 165*	596 \pm 75
Zn	178.05 \pm 34*	88.54 \pm 8



Concentração de Fe a 14d



Micronutrientes

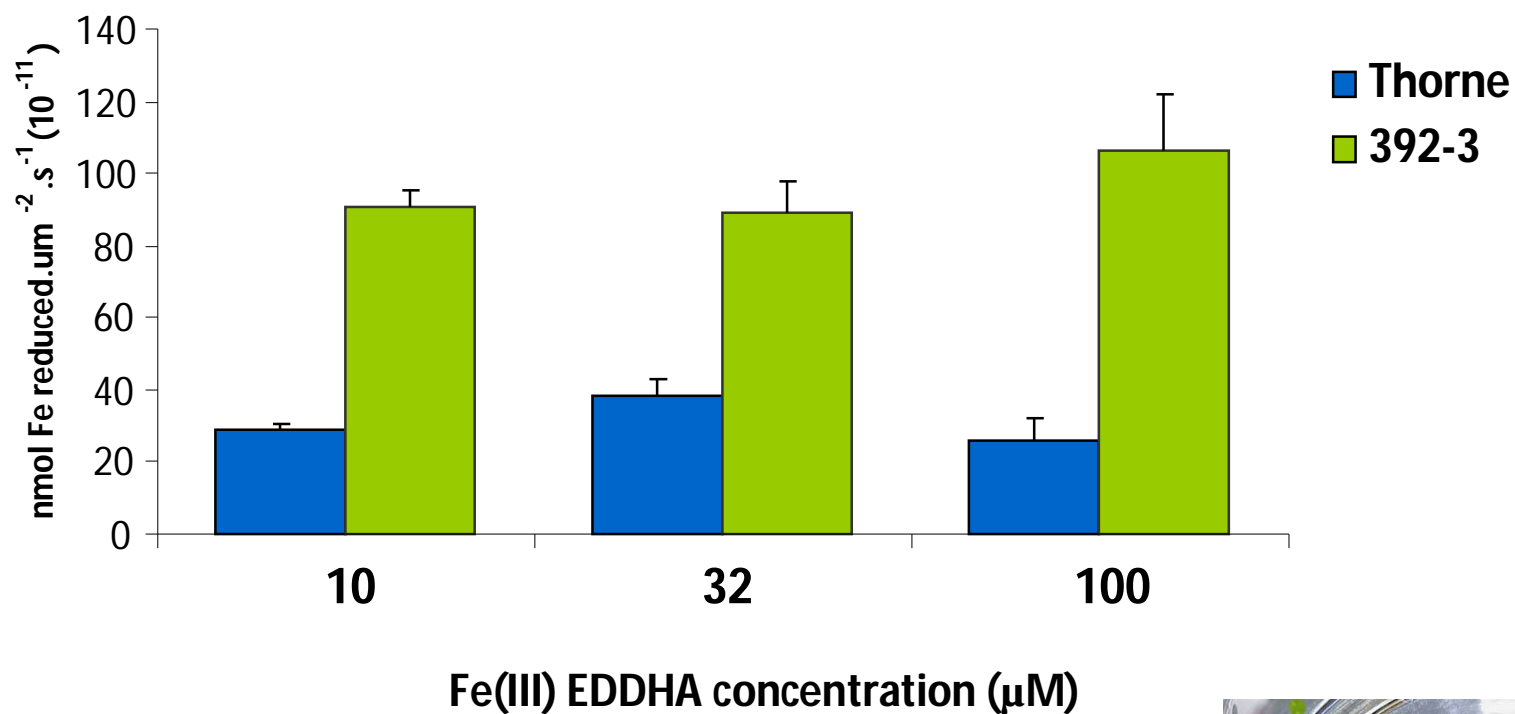
Mineral ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Shoots		Roots		Stems	
	392-3	Wt	392-3	Wt	392-3	Wt
Fe	$766 \pm 31^{**}$	196 ± 8	$582 \pm 25^{**}$	201 ± 11	$94 \pm 6^{**}$	41 ± 3
Mn	$188 \pm 8^{**}$	65 ± 2	$258 \pm 13^{**}$	122 ± 10	$258 \pm 13^{**}$	122 ± 10
K	$30575 \pm 1306^*$	27244 ± 389	$51266 \pm 2875^*$	46430 ± 7979	$46004 \pm 2467^*$	33692 ± 2556
P	$6912 \pm 105^*$	4658 ± 34	$17490 \pm 880^*$	12284 ± 738	$6106 \pm 393^*$	4558 ± 195
Zn	$283 \pm 6^{**}$	136 ± 3	$346 \pm 11^{**}$	100 ± 4	$149 \pm 9^{**}$	56 ± 3

Collection stage

Fe (μM)	Shoot		Pericarp		Seeds		
	Wt	392-3	Wt	392-3	Wt	392-3	
I	10	241 \pm 13	379 \pm 32 ^{**}	59 \pm 7	69 \pm 2	90 \pm 2	94 \pm 2
	32	260 \pm 14	287 \pm 35	74 \pm 6	61 \pm 2	93 \pm 1	104 \pm 2 ^{**}
	100	430 \pm 34	734 \pm 106 [*]	58 \pm 4	125 \pm 3 ^{***}	105 \pm 7	116 \pm 1 ^{**}
II	10	291 \pm 8	308 \pm 16	58 \pm 2	58 \pm 4	93 \pm 2	118 \pm 4 ^{**}
	32	234 \pm 15	308 \pm 39 [*]	65 \pm 6	53 \pm 2	94 \pm 3	104 \pm 3 ^{**}
	100	193 \pm 6	1073 \pm 24 ^{***}	54 \pm 4	135 \pm 5 ^{***}	89 \pm 1	111 \pm 5 ^{**}
III	10	126 \pm 2	147 \pm 19	38 \pm 1	52 \pm 2 ^{***}	92 \pm 1	112 \pm 4 ^{**}
	32	153 \pm 3	294 \pm 14 ^{***}	39 \pm 1	63 \pm 1 ^{***}	103 \pm 1	110 \pm 3 ^{**}
	100	435 \pm 18	1142 \pm 69 ^{***}	49 \pm 1	120 \pm 4 ^{***}	96 \pm 2	112 \pm 3 ^{**}

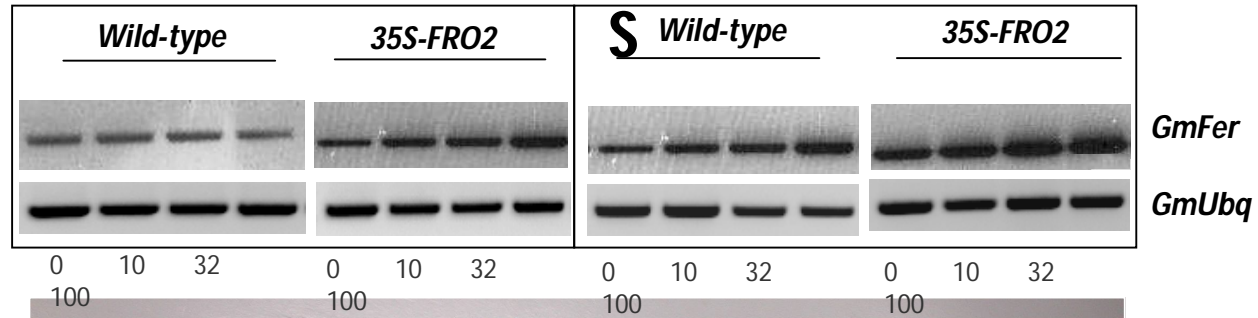


Actividade de FC-R *in vivo* em protoplastos



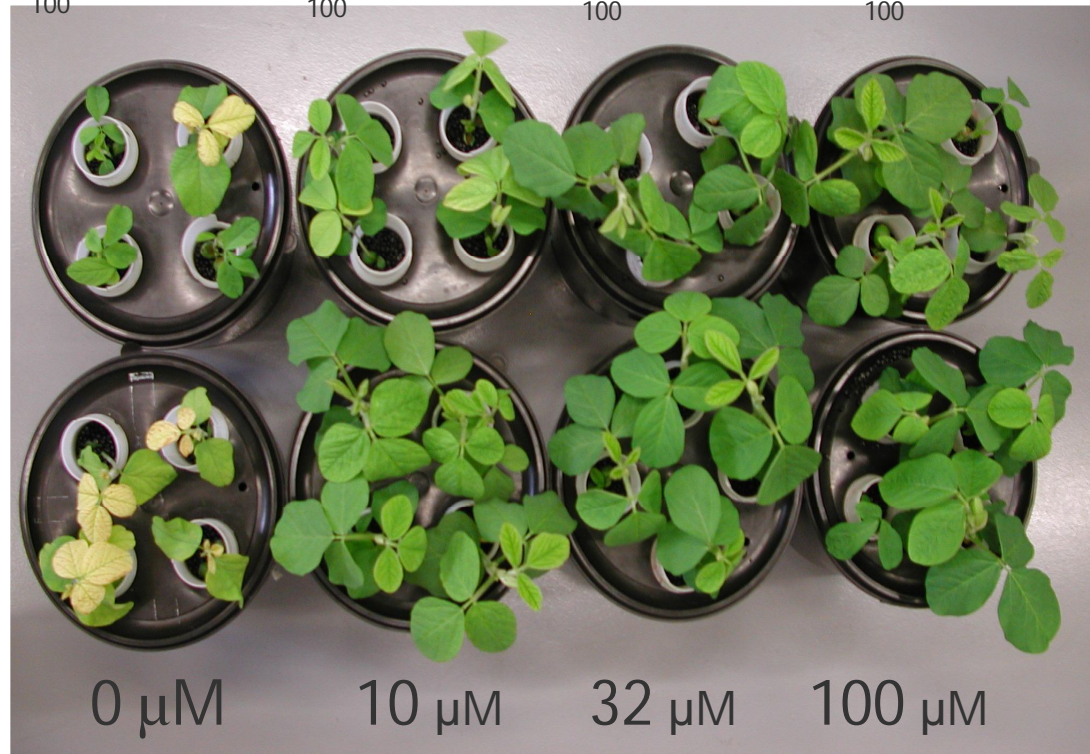
ROOTS

SHOOT

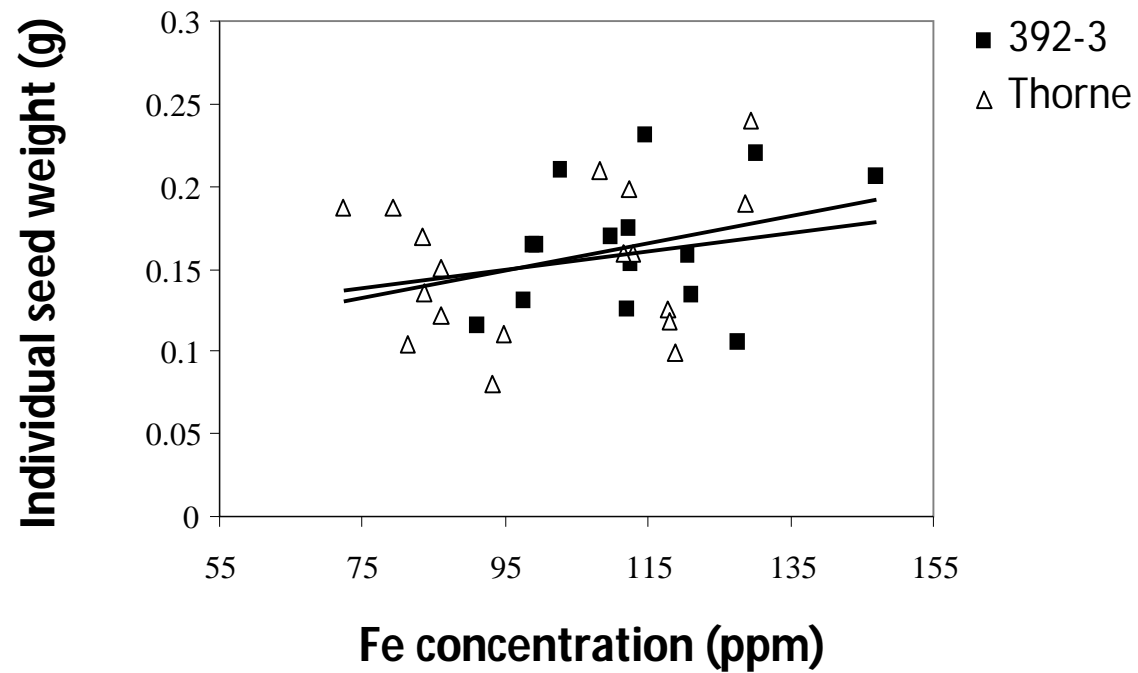


Wild type

35S-FRO2



Fe concentration vs. transported dry matter



Conclusões

- A biofortificação é uma estratégia viável para aumentar o teor nutricional de alimentos vegetais
- Confirmar biodisponibilidade
- Escolha do alimento
- Cuidados com sobre-acumulação
- A descodificação dos genomas abre os horizontes para outras aplicações

Agradecimientos

- ✚ Dr. Michael Grusak
- ✚ Dr. Swapan Datta, IRRI-Philippines
- ✚ Dr. Thomas Clemente, Nebraska
- ✚ Bill and Melinda Gates Foundation
- ✚ CNRC lab
- ✚ ESB-UCP
- ✚ FCT



**Obrigada pela vossa
atenção!**

