

## XI Reunião Estadual de Biotecnologia Vegetal/ II Reunião RedBio Brasil Zona Sul

### Programa e Resumos

# Biotecnologia Vegetal RS

CNPV  
R444p  
2002

PC-2004.00639

Programa e resumos...

2002

PC-2004.00639



27887-1

Bio  
asil  
Sul

**Embrapa**

## **República Federativa do Brasil**

*Fernando Henrique Cardoso*  
Presidente

## **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

*Marcus Vinícius Pratini de Moraes*  
Ministro

## **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa**

### **Conselho de Administração**

*Márcio Fortes de Almeida*  
Presidente

*Alberto Duque Portugal*  
Vice-Presidente

*Dietrich Gerhard Quast*  
*José Honório Accarini*  
*Sérgio Fausto*  
*Urbano Campos Ribeiral*  
Membros

### **Diretoria-Executiva da Embrapa**

*Alberto Duque Portugal*  
Diretor-Presidente

*Dante Daniel Giacomelli Scolari*  
*Bonifácio Hideyuki Nakasu*  
*José Roberto Rodrigues Peres*  
Diretores-Executivos

### **Embrapa Uva e Vinho**

*José Fernando da Silva Protas*  
Chefe-Geral

*Alexandre Hoffmann*  
Chefe-Adjunto de Administração

*Gilmar Barcelos Kuhn*  
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Uva e Vinho  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1516-8107

Novembro, 2002

## ***Documentos 35***

# **XI Reunião Estadual de Biotecnologia Vegetal/ II Reunião RedBio Brasil Zona Sul**

**06 e 07 de novembro de 2002**

**Hotel Villa Michelin, Bento Gonçalves, RS**

## **Programa e Resumos**

Editores

Paulo Ricardo Dias de Oliveira

Sandra de Souza Sebben

Bento Gonçalves, RS  
2002

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

### Embrapa Uva e Vinho

Rua Livramento, 515  
95700-000 Bento Gonçalves, RS, Brasil  
Caixa Postal 130  
Fone: (0xx)54 455-8000  
Fax: (0xx)54 451-2792  
<http://www.cnpuv.embrapa.br>  
[sac@cnpuv.embrapa.br](mailto:sac@cnpuv.embrapa.br)

<b>Embrapa</b>	
Unidade:	Ai - Sede
Valor aquisição:	
Data aquisição:	
N.º M. Fisco/Fatura:	
Fornecedor:	
N.º Voto:	
Origem:	
N.º Registro:	0639/04

### Comitê de Publicações

Presidente: Gilmar Barcelos Kuhn  
Secretária-Executiva: Nêmore Gazzola Turchet  
Membros: Gildo Almeida da Silva e Francisco Mandelli

Normalização bibliográfica: Kátia Midori Hiwatashi  
Tratamento das ilustrações: Gráfica Reúna  
Produção gráfica da capa: Luciana Mendonça Prado  
Foto fornecida por: Regina Beatriz Bernd

### 1ª edição

1ª impressão (2002): 500 exemplares

### Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP – Brasil. Catalogação-na-publicação

Embrapa Uva e Vinho

REUNIÃO ESTADUAL DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL (11.: 2002 : Bento Gonçalves, RS)  
Programa e resumos.../Editores Paulo Ricardo Dias de Oliveira, Sandra de Souza Sebben. – Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2002.  
52 p. — (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 35).

Evento realizado em conjunto com a II Reunião RedBio Brasil Zona Sul.

1. Biotecnologia Vegetal. 2. Rio Grande do Sul. I. Reunião RedBio Brasil Zona Sul. II. Oliveira, Paulo Ricardo Dias de. III. Sebben, Sandra de Souza. IV. Título.

CDD 581.80608165

© Embrapa 2002

## **Comissão Organizadora**

Ana Izaura Flores (UFRGS)

João Carlos Haas (Embrapa Trigo)

Lucas da Ressurreição Garrido (Embrapa Uva e Vinho)

Luis Fernando Revers (Embrapa Uva e Vinho)

Marcelo Gravina de Moraes (UFRGS)

Maria Helena Zanettini (UFRGS) - Coord. II Reunião RedBio Brasil Zona Sul

Maria Irene Fernandes (UPF)

Nádia Canali Lângaro (Embrapa Trigo)

Paulo Ricardo Dias de Oliveira (Embrapa Uva e Vinho) - Coord. XI REBV

Regina Beatriz Bernd (Embrapa Uva e Vinho)

Sandra Brammer (Embrapa Trigo)

## **Comissão Executiva (Embrapa Uva e Vinho)**

Edna Caliar Boni

Fernando Ribeiro Taroco

Lauro Luiz Dorigon

Luciana Mendonça Prado

Paulo Ricardo Dias de Oliveira - Coord.

Sandra de Souza Sebben



# Programa

## Dia 6/11 - Quarta-feira

08:00-10:00 - Credenciamento.

10:00-10:30 - Abertura.

10:30-12:00 - Conferência: **«La Biotecnología en la vida cotidiana. Un enfoque para la enseñanza média: del laboratorio a la comunidad».**

Graciela L. Salerno

Centro de Investigaciones Biológicas - FIBA

Mar del Plata - Argentina

12:00-14:00 - Intervalo para almoço.

14:00-16:00 - Painel: **“Técnicas aplicadas em Biotecnologia Vegetal no RS”.**

16:00-16:30 - Intervalo para café e visita aos pôsteres.

16:30-18:00 - Continuação do Painel.

20:30 - Coquetel de confraternização.

## Dia 7/11 - Quinta-feira

08:30-10:00 - Conferência: **“A organização de negócios em biotecnologia”.**

Carlos Alberto Moreira-Filho

Instituto de Ciências Biomédicas – USP

Hospital Israelita Albert Einstein

São Paulo - SP

10:00-10:30 - Intervalo para café e visita aos pôsteres.

10:30-12:00 - Conferência: **“Paisagem de adaptação, procedimentos de busca e otimização estética: fundamentos teóricos de prospecção de genes”.**

Joaquim A. Machado

Instituto de Ciências Biomédicas - USP

Syngenta Plant Science

São Paulo - SP

12:00-14:00 - Intervalo para almoço.

14:00-15:30 - Conferência: **“Projetos genoma: começo ou fim?”.**

Marie-Anne Van Sluys

Instituto de Biociências - USP

São Paulo - SP

15:30-16:00 - Plenária final e encerramento.





# Apresentação

A Reunião Estadual de Biotecnologia Vegetal, promovida na sua décima primeira edição pelo Programa Integrado de Biotecnologia Vegetal do Rio Grande do Sul - PIBV/RS, pela RedBio Brasil Zona Sul e pela Embrapa Uva e Vinho, constitui-se em fórum técnico-científico que busca estimular o intercâmbio entre os profissionais que atuam na área. Para tanto, está reservado espaço específico na programação do evento para a divulgação do estado da arte das atuais linhas de pesquisa e para a troca de experiências. Está prevista também a participação de especialistas convidados que apresentarão temas relevantes no atual contexto da Biotecnologia Vegetal. Será realizada paralelamente a II Reunião RedBio Brasil Zona Sul.

As atividades hoje em desenvolvimento no Rio Grande do Sul, nos campos do ensino, da pesquisa e da aplicação da Biotecnologia Vegetal, nas universidades, nas organizações de pesquisa e nas empresas, utilizam diversas abordagens, nos níveis celular e molecular, abrangendo a totalidade das espécies vegetais de importância econômica para o estado. Participam atualmente do PIBV/RS representantes de quinze instituições: Embrapa, UFRGS, UFPel, UFSM, UPF, UCS, PUCRS, URI, UCPel, URCAMP, UNISINOS, IRGA, Fepagro, Klabin Riocell e FZB.

Levando-se em conta a experiência existente, no que se refere à atuação integrada, multidisciplinar e com visão sistêmica no planejamento e na condução de projetos, é expectativa dos promotores do evento contribuir na criação de ambiente favorável à atuação cada vez mais articulada das instituições envolvidas com o ensino, a pesquisa, o desenvolvimento e a aplicação da Biotecnologia Vegetal, vindo assim a contribuir de forma crescente para o desenvolvimento regional sustentado.

*Paulo Ricardo D. de Oliveira*  
Coord. PIBV/RS

*Maria Helena B. Zanettini*  
Coord. RedBio Brasil Zona Sul

*José Fernando da S. Protas*  
Chefe-Geral Embrapa Uva e Vinho



# Sumário

## Conferências

La Biotecnología en la vida cotidiana. Un enfoque para la enseñanza média: del laboratorio a la comunidad (Graciela L. Salerno) _____	13
A organização de negócios em biotecnologia (Carlos Alberto Moreira Filho) _____	15
Paisagem de adaptação, procedimentos de busca e otimização estética: fundamentos teóricos da prospecção de genes (Joaquim A. Machado) _____	19
Projetos genoma: começo ou fim? (Marie-Anne Van Sluys) _____	21

## Painel: Técnicas aplicadas em Biotecnologia Vegetal no RS

Micropropagação, limpeza clonal, cultura de meristemas, células e calos (Lizete Augustin-UPF e Sergio Echeverrigaray Laguna-UCS) _____	25
Varição somaclonal, mutações induzidas e citogenética (Judith Viégas-UFPEL e Alice Battistin-Fepagro) _____	27
Resgate de embriões e embriogênese somática (Regina Beatriz Bernd-Embrapa Uva e Vinho e Elci Terezinha Henz Franco-UFSM) _____	29
Produção de haplóides via androgênese e gimnogenese (Edson Jair Iorczeski e Sandra Patussi Brammer-Embrapa Trigo) _____	31
Marcadores moleculares e mapeamento genético (Sandra Cristina Kothe Milach-Embrapa Trigo e Antônio Costa de Oliveira-UFPEL) _____	33
Diagnóstico e caracterização de fitopatógenos e de bactérias fixadoras de nitrogênio (Osmar Nickel-Embrapa Uva e Vinho) _____	37
Genes, genômica e bioinformática (Luis Fernando Revers-Embrapa Uva e Vinho, Giancarlo Pasquali e Janette Palma Fett-UFRGS) _____	41

Transformação genética (Cesar V. Rombaldi-UFPel e Maria Helena Zanettini-UFRGS)	43
Extração de óleos essenciais por hidrodestilação, arraste e vapor e extração supercrítica, e caracterização química por técnicas cromatográficas (Ana Cristina Atti dos Santos e Luciana Atti Serafini-UCS)	45
Projeto de Extensão: Programa de Apoio às Escolas Técnicas (Ana Izaura Pereira Flores-UFRGS)	49
Pesquisa documental, bibliográfica e jurisprudencial acerca da efetivação do princípio de precaução na União Européia (Lisiane Gravina Kunzler-UFRGS)	51

# **CONFERÊNCIAS**



## **La Biotecnología en la vida cotidiana. Un enfoque para la enseñanza média: del laboratorio a la comunidad**

---

*Graciela L. Salerno (fibamdq@infovia.com.ar)*

En la actualidad, la Biotecnología a través de sus desarrollos y usos, forma parte de nuestra vida diaria, ya que sus productos están comenzando a tener un fuerte impacto en la industria, en el medio ambiente y, más directamente, en la alimentación y en la salud. Esto es sin duda, una consecuencia de que la investigación en Ciencias Biológicas ha sufrido una gran expansión, generando un conocimiento mucho más profundo de los seres vivos. Así, hoy en día, es muy frecuente encontrar en los diferentes medios de comunicación alguna noticia referida a avances biotecnológicos. La aplicación de metodologías de la Ingeniería Genética y de la Biología Molecular ha dado lugar a novedosos y sorprendentes productos. Los alimentos transgénicos (aquellos producidos mediante la utilización de microorganismos, plantas o animales modificados por la aplicación de la Ingeniería Genética), las clonaciones, las terapias génicas, la predicción de enfermedades y posibles tratamientos que surgen a partir del conocimiento del genoma humano, los diagnósticos moleculares de enfermedades y de contaminaciones microbianas, la utilización de microorganismos en la biorremediación del medio ambiente, son entre otros, temas tratados en los medios de comunicación masiva.

Sin embargo, Biotecnología, Ingeniería Genética, organismos transgénicos (OGMs), son aún conceptos oscuros para la mayor parte de la sociedad, que está desinformada y a la vez demanda tener referentes que le brinden información rigurosa y veraz para dar respuestas a las preguntas que puedan surgir sobre los productos y aplicaciones de las nuevas tecnologías, que en muchos casos han sido motivo de controversias y debates, y que en otros aún continúan siéndolo.

En el Sistema Educativo argentino, los contenidos de Biotecnología prescritos en los programas actuales en las Escuelas de enseñanza media aún tienen escasa implementación. Se pueden argumentar varios motivos, pero además del obvio desfasaje que existe entre la aceleración en las novedades biotecnológicas y la capacitación de los docentes, sin duda los temores a las nuevas tecnologías, y el análisis de sus riesgos y beneficios, deben ser factores determinantes en la rezagada implementación en el aula. Es por eso que ha surgido un proyecto de innovación en la enseñanza de la Ciencia y la Tecnología generado desde la interacción entre un Centro de investigaciones científicas (el CIB de la FIBA) relacionado con la Universidad Nacional de Mar del Plata y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), y un grupo de Escuelas de enseñanza media del Partido de General Pueyrredon (Provincia de Buenos Aires), para promover un enfoque novedoso en la enseñanza de la Ciencia y sus aplicaciones biotecnológicas.

Las Escuelas de enseñanza media que participan en este proyecto tienen distintas características dentro del contexto local y regional en cuanto a: objetivos fundacionales, localización geográfica, orientación (producción bienes y servicios, comunicación, arte y diseño, ciencias naturales,

salud y medio ambiente, humanidades, ciencias sociales, economía y gestión de las organizaciones) y área curricular del nivel Polimodal (correspondiente a alumnos entre 14 y 17 años), características de la población escolar (nivel socio-económico y vínculo hogar-escuela, etc.), infraestructura, régimen (laico/religioso), tipo de gestión (pública, privada sin fines de lucro, privada de propietario), jornada (simple/doble) y jurisdicción (municipal, provincial, nacional).

El proyecto tiene como objetivo principal introducir en el proceso enseñanza-aprendizaje los contenidos de la Biotecnología moderna favoreciendo la comprensión de sus alcances, riesgos, beneficios e importancia en el medio social y natural, enfatizando una visión de la Ciencia como algo dinámico y que brinda soluciones a los problemas reales de la vida diaria. En cuanto a los objetivos específicos se propone llegar a la comunidad educativa en su conjunto a través de una actualización de conocimientos en temas relacionados con los nuevos productos biotecnológicos y sus impactos socio-culturales, económicos y ambientales, creando un espacio donde sus integrantes puedan interactuar y lograr implementar innovaciones pedagógicas, así como las facilidades para acudir a centros referenciales cuando se presenten nuevos interrogantes o aspectos que generen controversias.

En la propuesta se han tenido en cuenta varios aspectos: i) que la mayoría de los docentes de las escuelas medias, nivel Polimodal no cuentan con los medios necesarios para actualizarse en estas temáticas de manera rápida y transferirlas en forma sencilla, ii) que en la formación de los alumnos se tienen que brindar elementos cognitivos básicos y ofrecer herramientas prácticas que permitan lograr un aprendizaje significativo de los conceptos y una aproximación a los procesos de la Ciencia y sus aplicaciones en forma efectiva; iii) que sea posible implementar la innovación en Escuelas con distintas realidades concretas. Los docentes de las Escuelas que participan son profesores con diversas especializaciones, en particular, en la enseñanza de la Biología, Microbiología, Físico-Química, Procesos Productivos, Historia y Geografía, Espacios Institucionales y Economía. Cada institución ha designado un coordinador que es el responsable de la implementación de las actividades, planificación y diseño de la parte experimental a realizarse en cada una de sus respectivas instituciones. El Centro de Investigaciones y docencia universitaria, tiene también un coordinador que es responsable de generar propuestas de capacitación de los docentes de enseñanza media del Partido de General Pueyrredon y su zona de influencia, en forma continua a través de Cursos de perfeccionamiento en la temática Biotecnología, promover visitas a centros de investigación y desarrollo y empresas, y constituir la interfase entre estos centros y las Escuelas para favorecer la realización de pasantías de los alumnos en ellos. La propuesta de actividades del proyecto consta de actividades comunes a todas las Escuelas y el Centro de Investigaciones, y actividades específicas de cada institución, de acuerdo a los distintos perfiles que presentan las orientaciones de las áreas curriculares de los polimodales respectivos. Se hace especial énfasis en que las actividades puedan complementarse y articularse. Una de las herramientas usadas en la innovación educativa es el desarrollo de productos didácticos de fácil transferencia y de un centro virtual de referencia. En el primer año del proyecto se pretende alcanzar la meta de actualizar los contenidos en las escuelas participantes, mejorar las estrategias de enseñanza, de evaluación y los aprendizajes de los alumnos, promoviendo el desarrollo de una actitud crítica frente a la introducción de innovaciones biotecnológicas en la vida cotidiana, y la difusión a la comunidad, siendo la propia comunidad educativa el centro multiplicador.

En etapas posteriores, se focalizará el proyecto hacia la sistematización de la presente experiencia, extendiéndola a otras instituciones educativas del partido, de la región y la provincia, proyectando la generación de una red nacional, con la suma de esfuerzos similares con centros focales en otras localizaciones geográficas.

Por último, la finalidad a largo plazo de la propuesta se habrá alcanzado si se logra promover una nueva mirada hacia la Ciencia y la Tecnología y una toma de conciencia de su innegable papel social en nuestra sociedad actual.



## **A organização de negócios em biotecnologia**

---

*Carlos Alberto Moreira Filho (cmoreira@icb.usp.br)*

O Brasil é uma das 3 economias da América Latina com melhor desempenho nos últimos 40 anos, mas nesse período seu crescimento de produtividade foi cinco vezes menor que o norte-americano e cerca de metade do mundial. Como a produtividade depende essencialmente do desenvolvimento tecnológico, é natural que o sistema nacional de pesquisa e desenvolvimento (P&D) tenha se tornado foco de atenção e reforma.

O primeiro aspecto a considerar é o investimento em P&D como percentagem do PIB que, no Brasil, foi de 0.91% em 1999. Embora acima da média regional latino-americana, que foi de 0.59% naquele ano (última informação disponível), esse valor ainda é muito inferior ao observado na União Européia, de 1,81%, nos EUA, de 2.84%, e no Japão, de 3.03%. Nos NICs (new industrialized countries) asiáticos, o investimento público em P&D está percentualmente próximo ao do Brasil mas o setor privado contribui com 3 vezes esse montante. No Brasil, a contribuição do setor privado está em torno de 28% do investimento total. Historicamente, o reduzido investimento privado em P&D no Brasil derivou não só da prolongada instabilidade macroeconômica mas, também, da ausência de medidas reguladoras e fiscais adequadas - leis de propriedade intelectual, incentivo ao capital de risco - além do elevado grau de protecionismo em alguns setores da economia. Como consequência, a interação universidade-empresa foi prejudicada no país (Moreira-Filho, 1998).

Nos anos 90 ocorreram mudanças econômicas e institucionais que, em seu conjunto, abriram novas perspectivas para o investimento em P&D no Brasil: controle da inflação, adoção de novas leis de propriedade intelectual e implantação programas de fomento (federais e estaduais) para a inovação tecnológica via consórcios universidade-empresa, ou diretamente na empresa (Cruz, 1998). A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) criou os programas de apoio ao desenvolvimento tecnológico de pequenas empresas (PIPE) e de parcerias universidade-empresa para inovação tecnológica (PITE e ConSITec). Em 2001 o Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) criou os Fundos Setoriais para P&D em áreas estratégicas, entre as quais biotecnologia, saúde e agronegócio. Esses Fundos, com estratégias de longo prazo e foco em resultados, possuem recursos adicionais ao orçamento fiscal (derivados de receitas diversas, como taxas sobre remessas de recursos ao exterior para pagamento de royalties) e sua gestão é compartilhada por representantes do setor empresarial, da comunidade científica e de agências governamentais.

Esse novo cenário agora permite a entrada de um ator essencial para o desenvolvimento tecnológico: o capital de risco. Iniciativas pioneiras nessa linha são as da Fundação Biominas, em Belo Horizonte, MG, que opera dois fundos de investimento em inovação tecnológica com recursos do BID e de

e do grupo Votorantim, maior conglomerado empresarial privado do Brasil, que criou uma empresa de capital de risco com o objetivo de investir US\$ 300 milhões em novas empresas de biotecnologia e informática.

A continuidade e a expansão dos fundos de capital de risco dependem da identificação de empresas onde a inovação tecnológica seja um fator de crescimento expressivo da receita e dos lucros, permitindo o retorno dos investimentos com uma margem razoável de ganho. Nesse sentido, um alvo importante para o capital de risco no Brasil são as incubadoras de empresas, muitas delas dedicadas às biotecnologias, e que funcionam como parques tecnológicos, situando-se junto a campi universitários, como CIETEC/USP, Biominas/UFMG, BioRio/UFRJ, CBERGS/UFRGS etc.

### **A criação e o desenvolvimento de empresas de biotecnologia**

O pesquisador e o investidor interessados em iniciar uma empresa de biotecnologia a partir de uma descoberta científica tem que conhecer as etapas essenciais para esse tipo de empreendimento. A primeira etapa é a da validação, onde se avalia se uma descoberta pode tornar-se uma inovação tecnológica, isto é, um produto ou processo no contexto de mercado. Nessa fase também se avaliam as estratégias de proteção da propriedade intelectual, a natureza da inovação (por exemplo, se é uma tecnologia plataforma, cuja utilização pode ser expandida para outras linhas de produtos), o tempo de chegada e permanência dos novos produtos no mercado, as possibilidades de licenciamento.

A segunda etapa é a elaboração de um plano de negócios, onde se identificam os objetivos presentes e futuros da empresa, o objetivo dos investidores, o modelo de gestão, as janelas de oportunidade (e as ameaças) apresentadas pelos cenários econômico, tecnológico e político-institucional que envolvem o empreendimento.

A terceira etapa relaciona-se à evolução do capital humano da empresa. Essa evolução pode ser entendida como um processo de aquisição de competências. A "primeira geração" da empresa é a dos fundadores, que contribuem com as idéias mestras do negócio. A "segunda geração" é a dos validadores, cuja competência técnica específica permite estruturar a organização, técnica e financeiramente. A "terceira geração" é a dos gestores de negócios, que vão conduzir a empresa ao mercado. Finalmente, a "quarta geração" é a dos especialistas em marketing e distribuição, que vão conduzir a empresa na busca da lucratividade.

A quarta etapa é concomitante com a terceira e diz respeito aos mecanismos de financiamento da empresa. Muitas empresas de biotecnologia nascem como incubadas em parques tecnológicos. O primeiro passo, portanto, diz respeito à inserção do empreendimento em programas públicos e/ou privados de fomento à criação de empresas de tecnologia. O segundo passo é a relação com o capital de risco, que envolve as estratégias de entrada e saída desse capital na empresa. Esse processo, se bem conduzido, levará à consolidação da empresa e à sua abertura a outros investidores.

Finalmente, é preciso considerar que em determinados setores usuários de biotecnologias o desenvolvimento tecnológico é conduzido por grandes corporações, sem participação expressiva das empresas de biotecnologia (Moreira-Filho e col. 1996). No Brasil, o setor de celulose e papel é um exemplo dessa situação. No entanto, é preciso considerar que esse setor construiu, ao longo dos anos, uma importante rede de inovação tecnológica que inclui numerosas instituições de pesquisa, no país e no exterior. Esse modelo de rede pode ser estendido para outros setores do agronegócio brasileiro, tendo os centros da EMBRAPA como parceiros nucleadores.

### **Referências**

CRUZ, C. H. B. Universidade, empresa e a inovação tecnológica. In: *Interação Universidade Empresa*. Brasília: IBICT, 1998.

MOREIRA FILHO, C. A.; SILVA, M. E.; DIAS, G. L. S.; XAVIER, A. P. A. Structural adjustment and biotechnology demand in South American agriculture: the case of Brazil. In: *The Impact of Plant Molecular Genetics*. BWS Sobral ed. Boston: Birkhäuser, 1996.

MOREIRA FILHO, C. A. A integração universidade-empresa e o desenvolvimento da moderna biotecnologia no Brasil. In: *Interação Universidade Empresa*. Brasília: IBICT, 1998.



## **Paisagem de adaptação, procedimentos de busca e otimização estética: fundamentos teóricos da prospecção de genes**

*Joaquim A. Machado (joaquim.machado@syngenta.com)*

Estudos teóricos envolvendo a Organização e o Fluxo da Informação Genética em sistemas complexos, incluindo os sistemas biológicos, sempre representaram uma área desafiadora, pela dificuldade de compreensão acerca do fenômeno do continuum entre a Informação gerada quando do início do Universo como o conhecemos, e a sua organização posterior, ou mesmo acerca da pré-existência da Informação como pré-requisito para a organização da matéria.

Com o advento da Bioinformática (All science is computer science), o tratamento dado aos estudos de coevolução genômica passou a incluir essa conceituação teórica, pois a necessária visão sistêmica da Biologia passa agora a ser centrada na Informação. A própria Genética passa a receber propostas de ser renomeada, agora como "Física da Informação". A maior compreensão da Genética por parte dos pesquisadores em Informática, permite que se defina a recombinação genética como sendo um procedimento de busca (search procedure) cuja função é prover eventos para o estabelecimento de paisagens de adaptação em um espaço de oportunidades genéticas.

Ao se desenhar métodos de bioprospecção deve-se primeiramente levar em conta que a maioria das estruturas vivas são estruturas dissipativas, o que por si só é um indicador perfeitamente mensurável. Novas metodologias de prospecção de genes e seus produtos, devem levar em conta que na natureza, há liberdade e arbitrariedade para desenhar, variar e selecionar. A mesma liberdade ocorre em nível de regulação genética. Se Monod afirmava que a estrutura do circuito regulatório é arbitrária do ponto de vista químico, tudo indica que há liberdade para construir circuitos genéticos arbitrários. Esses circuitos ficam então sujeitos, pela seleção, a atuar como circuitos genéticos úteis. Assim, esses princípios se indicam a dificuldade no reconhecimento de padrões, também favorecem o desenho de novos métodos de bioprospecção, agora baseados na identificação de paisagens de adaptação molecular.

É possível obter, a partir da distribuição topológica desses micro-estados a caracterização do espaço de adaptação protética, que descreve a distribuição das capacidades de execução de determinadas funções no espaço protético. Essas funções podem ser denominadas de tarefas catalíticas. O resultado final é então o mapa de todas as reações químicas que podem ser catalisadas em um espaço de tarefas possíveis, onde existem tarefas vizinhas, e onde reações muito diferentes podem compor uma mesma tarefa catalítica.

Sistemas de reconhecimento de propriedades biológicas complexas podem ser fundamentados no fato de que a Seleção atua sobre sistemas complexos suspensos nos limites entre a ordem e

o caos. Esses são os melhores sistemas para a coordenação de tarefas complexas, e para a evolução em ambientes complexos. Os mais recentes desenvolvimentos em bioprospecção levam em consideração que a trajetória de expressão de um gene pode ser representada como uma função de onda. Assim, uma das recentes estratégias em bioprospecção consiste em identificar genes com trajetórias cinéticas similares.

Como exemplo reverso concreto da aplicabilidade desses conceitos, recentemente a empresa ChromaEnergy passou a utilizar algoritmos de bioinformática na busca e reconhecimento de padrões estéticos indicadores da presença de corpos de petróleo e gás em estruturas geológicas. A aplicação desses modelos permitiu elevar de 40 para 70% a probabilidade de resultados positivos. Um interessante exercício é considerar a aplicação dessas metodologias de análise de texto em estudos da biodiversidade, obtendo-se o que se pode chamar de topologia molecular de ecossistemas. De fato, esse estudo está sendo desenvolvido pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, em colaboração com o grupo de Biosemiótica da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo.

Linguagem natural e linguagem genética possuem a característica comum de que ambas podem converter informação separada por longa distância em informação adjacente. Algoritmos de análise dessa conversão mostram-se potentes ferramentas de detecção de regiões codificadoras em textos informacionais genéticos. Uma definição de Semântica é a de que essa área do conhecimento trata do estudo da evolução do sentido das palavras através do tempo e do espaço. Tudo indica que um dos objetivos da vida é a busca de soluções estéticas mais aprimoradas (otimização estética). Time is ripen para que a bioprospecção incorpore esses procedimentos de análise semântica.

## **Projetos genoma: começo ou fim?**

---

*Marie-Anne Van Sluys (mavsluys@ib.usp.br)*

Desvendar a estrutura da molécula de DNA e a compreensão do processo de duplicação semi-conservativa do material genético permitiu que no final do século passado fossem realizados projetos que decodificavam o potencial genético de diversos organismos na face da Terra, inclusive o Genoma Humano. Para muitos, o simples fato de conhecer a seqüência linear da molécula de DNA dos organismos é o produto final de um projeto Genoma. Para outros é apenas o início para identificar o potencial codificante do organismo e sua manifestação no ambiente. Ao longo de um projeto genoma, diversas fases podem ser identificadas: entre elas a escolha de um organismo, a estratégia de seqüenciamento, a organização das seqüências obtidas em um banco de dados e a anotação do genoma em estudo. Anotação significa a identificação dos genes em potencial. A partir desta etapa são elaboradas hipóteses biológicas e evolutivas em relação a este organismo. Surge então deste tipo de abordagem uma nova área do conhecimento denominada Genômica. Este termo engloba tanto as etapas de seqüenciamento quanto aquelas envolvidas no que se conhece por Genômica Funcional onde as correlações biológicas serão testadas individualmente ou em conjunto. Neste contexto serão apresentados os projetos genoma das bactérias fitopatogênicas *Xylella*, *Xanthomonas* e *Leifsonia* realizados pelo grupo ONSA e quais são os conhecimentos científicos e perspectivas decorrentes destes projetos.

Apoio financeiro: AEG/ONSA/FAPESP/USDA/CNPq





# **PAINEL:** Técnicas Aplicadas em Biotecnologia Vegetal no RS

---

Organizadores:

Marcelo Gravina de Moraes-UFRGS ([mgm@vortex.ufrgs.br](mailto:mgm@vortex.ufrgs.br))

Nadia Canali Lângaro-Embrapa Trigo ([nadia@cnpt.embrapa.br](mailto:nadia@cnpt.embrapa.br))

Paulo R. Oliveira-Embrapa Uva e Vinho ([paulo@cnpvu.embrapa.br](mailto:paulo@cnpvu.embrapa.br))

Regina B. Bernd-Embrapa Uva e Vinho ([bernd@cnpuv.embrapa.br](mailto:bernd@cnpuv.embrapa.br))

Esse painel foi organizado com o objetivo de divulgar o estado da arte da pesquisa em Biotecnologia Vegetal, atualmente em desenvolvimento no Rio Grande do Sul. Busca-se divulgar o conhecimento, promover o intercâmbio técnico-científico e estimular as trocas de experiências, o estabelecimento e o fortalecimento das parcerias e das ações de complementariedade e de cooperação entre as equipes que desenvolvem atividades nessa área.

Para compor o painel, os trabalhos foram conduzidos em duas etapas. Inicialmente, foi elaborado e distribuído um formulário, dirigido às diferentes equipes que atuam nos laboratórios de Biotecnologia Vegetal. Foram levantados dados referentes à composição das equipes, espécies vegetais pesquisadas, técnicas utilizadas e aplicações prioritárias de cada laboratório. Numa segunda etapa, as informações obtidas foram organizadas e repassadas a relatores convidados, cuja atribuição foi preparar os resumos para publicação e as apresentações orais referentes a cada técnica ou conjunto de técnicas específicas.

O painel constituiu-se, portanto, na apresentação de onze relatos, sendo que nove correspondem às informações coletadas, agrupadas por biotécnicas, conforme consta nos resumos aqui publicados. Em vista da relevância do tema 'Percepção Pública', foram adicionados dois relatos sobre o assunto.

## Micropropagação, limpeza clonal, cultura de meristemas, células e calos

---

Lizete Augustin ([augustin@upf.tche.br](mailto:augustin@upf.tche.br))

Sergio Echeverrigaray Laguna ([selaguna@yahoo.com](mailto:selaguna@yahoo.com))

Vinte e dois laboratórios do Rio Grande do Sul executam trabalhos envolvendo técnicas de limpeza clonal, cultura de meristemas, células e calos no Estado do Rio Grande do Sul. Os trabalhos envolvem diversas espécies entre as quais fruteiras de clima temperado (videiras, macieiras, citrus, pessegueiros, ameixeiras, amoreiras, morangueiros, caquizeiros), gramíneas (aveia, milho, arroz, trigo, cevada), plantas arbóreas (pinus, leucena, araucária, erva-mate, eucalipto), ornamentais (orquídeas, gipsofila), plantas medicinais nativas e exóticas (*Ocimum*, *Bryophyllum*, *Maytenus*, *Pimpinella*, *Cunila*), batata, soja, alcachofra, tabaco, *Arabidopsis thaliana*, entre outras. A cultura de calos vem sendo empregada na propagação de videiras através de embriogênese somática. Os estudos envolvendo culturas de calos e células de plantas aromáticas e medicinais têm por objetivo a otimização de condições de indução de calos e estabelecimento de culturas de células em suspensão visando o desenvolvimento de trabalhos relacionados com a produção de metabólitos secundários.

A micropropagação é uma técnica biotecnológica onde se cultiva *in vitro* pequenos propágulos (explantes) como ápices caulinares (meristemas), sementes (embriões imaturos), secções de folhas, flores (pétalas, anteras), raízes e outros. Normalmente o objetivo da micropropagação é a obtenção de plantas geneticamente idênticas à planta matriz e isentas de moléstias, principalmente viroses. Neste caso o explante mais indicado é o ápice caulinar por ser um tecido bastante estável e por não estar contaminado com vírus mesmo quando isolado de uma planta matriz contaminada. A micropropagação é uma das técnicas que tem trazido resultados mais práticos e concretos ao nível de produtor. No Rio Grande do Sul, 17 laboratórios estão trabalhando com micropropagação em várias espécies, com finalidade de produção comercial e de pesquisa visando a otimização do processo. A seguir são relacionadas as atividades desenvolvidas por alguns destes laboratórios. O Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Clima Temperado de Pelotas foi o primeiro, no Estado, a desenvolver trabalhos de micropropagação em várias espécies de frutíferas e olerícolas. Atualmente utiliza a micropropagação com a finalidade de produção comercial de mudas matrizes de morangueiro, de produção de batata-semente e de porta-enxerto de macieira. Na Universidade de Caxias do Sul, o Laboratório de Biotecnologia Vegetal e Microbiologia Aplicada trabalha com espécies medicinais, aromáticas e ornamentais, com diversas finalidades: 1) Otimização do sistema de micropropagação em *Lavanda dentata*, *Cunila galioides*, *Cunila incisa*, tomilho (*Thymus vulgaris*) e *Hesperozygis ringens*; 2) Produção e transferência de material para produtores da região em lavandas e lavandins (*Lavanda vera*, *Lavanda híbrida*); 3) Recuperação e manutenção de plantas livres de vírus em *Petunia híbrida*; 4) Conservação de germoplasma *in vitro* em *Cunila incisa* e

*Hesperozygis ringens*. O Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Passo Fundo realiza a micropropagação através da cultura de ápices caulinares de espécies olerícolas (batata e morangueiro) e ornamentais (*Gypsophila paniculata*) para fins de comercialização. Em batata, a aplicação da técnica visa a produção de batata-semente pré-básica livre de viroses, onde diversos clones são repassadas para produtores de batata-semente do Rio grande do Sul e de Santa Catarina. Com a mesma finalidade são produzidas mudas matrizes de várias cultivares de morangueiro, as quais são transferidas para viveiristas da região. O Laboratório também realiza a micropropagação em vários gêneros de orquídeas (*Cattleya*, *Dendrobium*, *Laelia* e *Oncidium*) através da sementeira *in vitro*, visando a produção de mudas para orquidófilos da região. Além disto, estão sendo realizados trabalhos de pesquisa, visando o desenvolvimento de protocolos em alcachofra, erva-mate e *Ginkgo biloba* e, a otimização do mesmo em *Gypsophila paniculata* e em alguns genótipos de morangueiro. No Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Uva e Vinho, de Bento Gonçalves, são realizados trabalhos de micropropagação em videira e macieira, com o objetivo de produzir material básico, livre de vírus, para matrizeiros da própria Embrapa e para viveiristas e produtores. O Instituto Biotecnológico de Reprodução Vegetal - INTEC/URCAMP, de Bagé, trabalha com micropropagação de morangueiro e videira, tendo por objetivo a pesquisa e a produção comercial. Na Universidade Federal de Santa Maria, o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais está trabalhando com orquídeas (*Vriesea* sp. e *Cattleya tigrina*), bromélias (gênero *Dyckia*), lenhosas (caixeta, açoita cavalo e cerejeira do mato) com finalidade de pesquisa de protocolos e estudos de morfogênese. O Laboratório de Cultura de Tecidos e Transformação de Plantas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul tem como objetivo a micropropagação *in vitro* e conservação de germoplasma em Bromélias nativas do RS utilizando como explantes sementes maduras. O Laboratório de Biotecnologia - Horticultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS realiza trabalhos de pesquisa e produção de mudas de latifólia, porta-enxertos de videiras, pesquisa em citrus (microenxertia) e produção de mudas de orquídeas por sementeira *in vitro*. Na Fepagro o Laboratório de Cultura de Tecidos vem trabalhando com orquídeas nativas através do processo de sementeira *in vitro* com finalidade de repovoamento. No mesmo existem projetos para trabalhar com outras culturas como videira e batata-doce. Na Universidade Federal de Pelotas, o Laboratório de Cultura de Células e Tecidos de Plantas está desenvolvendo protocolos de várias espécies do gênero *Prunus* para serem utilizadas como porta-enxertos. A empresa Klabin Riocell realiza no Laboratório de Biotecnologia Florestal Barba Negra trabalhos com *Eucalyptus* spp. onde pesquisam melhores protocolos para cada genótipo e para produção comercial de mudas através da técnica de miniestaquia. Poucos laboratórios possuem parcerias e um bom sistema de comercialização. Porém, há exemplos de sistemas de produção funcionando bem como na Universidade de Passo Fundo, onde existem convênios com produtores particulares de batata-semente e com o SPSB da Embrapa de Canoinhas/SC. O Laboratório da Universidade de Caxias do Sul também possui parcerias com produtores da região de Morro Reuter e com a Floricultura Úrsula. Destaca-se, também, o Laboratório de Cultura de Tecidos e Transformação de Plantas da UFRGS que possui parcerias com a Fundação Zoobotânica do RS e com o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UNISINOS. Nos laboratórios da Embrapa Clima Temperado e da Embrapa Uva e Vinho também há parcerias com instituições de pesquisa e com o setor privado. De uma forma geral pode-se afirmar que são boas as perspectivas para a evolução da micropropagação em relação à pesquisa e produção no Estado e que estas perspectivas poderão ser muito favoráveis dependendo dos esforços setoriais (demanda dos produtores) e governamentais (regulação e fiscalização da produção de mudas).

## Variação somaclonal, mutações induzidas e citogenética

---

Judith Viégas ([juviegas@zaz.com.br](mailto:juviegas@zaz.com.br))

Alice Battistin ([batti@terra.com.br](mailto:batti@terra.com.br))

A variação genética espontânea encontrada em plantas regeneradas de cultura *in vitro*, chamada de **variação somaclonal**, é excelente fonte de variabilidade a ser explorada em programas de melhoramento genético, podendo ser detectada e selecionada tanto *in vitro* como *ex vitro*. A variação somaclonal é ocasionada pela liberação de mutações preexistentes nas células do explante ou pelo processo de cultivo *in vitro*. A variabilidade *in vitro* também pode ser induzida através da utilização de mutagênicos físicos ou químicos. Entre as vantagens da **indução de mutações *in vitro*** está o somatório de grande população de células haplóides ou diplóides em pequeno espaço físico e o controle ambiental e de cultivo, que propiciam tratamento mutagênico uniforme. As mutações induzidas podem ser selecionadas, também, tanto *in vitro* como *ex vitro*. As mutações ocorridas *in vitro*, seja por variação somaclonal ou por mutação induzida, podem ser gênicas ou cromossômicas. As técnicas de **citogenética** são utilizadas para detectar as alterações cromossômicas numéricas e/ou estruturais produzidas nas plantas regenerantes. Esta análise citogenética é importante, principalmente, para a utilização dos regenerantes em trabalhos de melhoramento genético. As plantas regeneradas de cultivo *in vitro*, para serem aproveitadas em melhoramento, não devem ser quimeras, necessitam apresentar comportamento meiótico e boa viabilidade polínica. As técnicas de mutação induzida, variação somaclonal e citogenética são utilizadas em sete laboratórios de biotecnologia vegetal do Rio Grande do Sul. No Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo (UPF), a variação somaclonal é utilizada como rotina na busca de mutações úteis para o melhoramento genético de aveia. Já foram obtidos soma clones estáveis para redução de estatura, precocidade, maior rendimento de grãos, peso de mil sementes e rendimento industrial. Também localizado em Passo Fundo está o Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Trigo, onde é utilizada a técnica de citogenética para confirmação do número cromossômico de regenerantes de cultura de anteras de cevada e de híbridos intergenéricos obtidos por cultura de embriões. A parceria com o Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) possibilitou o desenvolvimento das técnicas de hibridação *in situ* (HIS e GISH) para avaliação dos híbridos intergenéticos *Triticum aestivum/Agropyron elongatum*. No Laboratório de Fitopatologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em Porto Alegre, é utilizada uma técnica mista entre variação somaclonal e mutação induzida, que visa a ativação de retrotransposons com a finalidade de gerar mutantes de interesse, isolar e estudar genes de arroz. Os mutantes obtidos serão distribuídos a instituições interessadas, haverá disponibilidade de realizar teste funcional de genes de interesse de outras instituições e as técnicas desenvolvidas poderão ser aproveitadas para outras gramíneas. Já existe uma parceria estabelecida com o IRGA e em início com a Embrapa Arroz e Feijão e a Embrapa Trigo. No IRGA,

em Cachoeirinha, a variação somaclonal obtida através do cultivo de embriões, também, é utilizada para obtenção de variantes de interesse agrônômico em arroz, em especial para tolerância à toxicidade por ferro. Este trabalho já gerou plantas regeneradas e é realizado em parceria com a UFRGS. O Laboratório de Biologia Celular do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) utiliza as técnicas de citogenética e mutação induzida em plantas medicinais, com o objetivo de obtenção de maior produção de óleos essenciais e de princípios ativos. Estão em estudo a camomila, o orégano, o manjerição, a espinaheira santa, entre outros. O setor de citogenética utiliza as técnicas tradicionais de estudo de cromossomos mitóticos e meióticos, assim como de viabilidade polínica, para verificar número cromossômico, alterações cromossômicas, comportamento meiótico e fertilidade. Este laboratório faz parceria com o Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Católica de Pelotas (UCPel), que trabalha com plantas medicinais nativas e arroz, utilizando a variação somaclonal para obtenção de alterações favoráveis. Na área de citogenética, o material regenerado será avaliado pelo teste de ensaio cometa. O Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, em parceria com a FAO/IAEA utiliza mutação induzida com radiação gama ( $Co^{60}$ ) em arroz e aveia para gerar variabilidade, identificar e caracterizar mutantes do sistema de raízes, para construção de banco de germoplasma. Conta, atualmente, com um número superior a 1.000 possíveis mutantes em arroz e aveia, que estão em fase de confirmação e caracterização. Os resultados do arroz devem ser utilizados em estudos de clonagem e prospecção de genes em outros cereais.

## Resgate de embriões e embriogênese somática

---

Regina Beatriz Bernd ([bernd@cnpuv.embrapa.br](mailto:bernd@cnpuv.embrapa.br))

Elci Terezinha Henz Franco ([elci@ccne.ufsm.br](mailto:elci@ccne.ufsm.br))

A técnica de Resgate de Embriões zigóticos é desenvolvida em dois laboratórios de Cultura de Tecidos no estado. Na Embrapa Uva e Vinho, para recuperação de híbridos de videira do Programa de Melhoramento Genético, que visa a obtenção de novas variedades apirênicas. No Jardim Botânico de Porto Alegre, com o objetivo de propagação das espécies ameaçadas de extinção, *Heisteria silvianii* (Olacaceae), *Bauhinia microstachia* (Fabaceae) e *Machaerium nyctitans* (Fabaceae), todas de rara ocorrência no Rio Grande do Sul, sendo realizada em sementes imaturas que não apresentam condições naturais de germinação.

A técnica de Embriogênese Somática, que ao contrário da supracitada, forma embriões sem a fusão de gametas, é desenvolvida em nove laboratórios no estado envolvendo diversas espécies, em parcerias ou em programas individuais.

NA UFSM (Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal/Biologia), são realizados trabalhos com espécies nativas que tenham baixos índices de reprodução sexuada e vegetativa, como *Walteria douradinha*, e a espécie florestal *Didymopanax morototoni*, esta última em parceria com o a UFRGS (Laboratório de Fisiologia Vegetal). As dificuldades apresentadas pelas arbóreas estão em otimizar e uniformizar a obtenção dos embriões somáticos.

Em parceria, a UCPel (Laboratório de Genética e Biologia Molecular) e a UFPel (Laboratório de Biologia Celular) estão estudando o alecrim com os objetivos de propagação clonal, conservação de germoplasma e futuramente transformação genética, tendo sido constatados alguns problemas na germinação dos embriões. Com os mesmos objetivos, estes laboratórios vão dar início a trabalhos com manjeriçã.

Em outra parceria, o Laboratório de Cultura de Tecidos e Transformação de Plantas do Departamento de Genética da UFRGS e o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências da Saúde da UNISINOS, estão estudando quatorze cultivares de soja recomendadas para o plantio no RS, e tem como objetivos gerais: (1) a identificação de genótipos com alto potencial de resposta à indução de embriogênese somática e regeneração *in vitro*; (2) a otimização do protocolo de regeneração de plantas de soja via embriogênese somática; e (3) a obtenção de tecido embriogênico com capacidade de proliferação e regeneração a ser utilizado como alvo para a transferência de genes. O ponto crítico tem sido a fase de maturação dos embriões.

A equipe da PUCRS (Laboratório de Biotecnologia Vegetal) tem trabalhado para otimizar a indução

de embriões somáticos em culturas celulares de *Araucaria angustifolia*.

No Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Uva e Vinho, a regeneração de plantas por embriogênese somática foi obtida em três cultivares de videira, e estão trabalhando para melhorar a eficiência da técnica, com o objetivo de estabelecer um protocolo para transformação genética.

No Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade de Agronomia da UPF, desenvolvem trabalhos de embriogênese somática de aveia, com regeneração de plantas a partir de embriões zigóticos imaturos, e iniciam trabalhos com novos explantes para acelerar o processo, objetivando a indução de variação somaclonal e seleção de mutantes úteis ao programa de melhoramento genético. Em colaboração com a Embrapa Trigo, este laboratório está iniciando um trabalho de indução de calos embriogênicos friáveis de milho, para fins de transformação genética.

O Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Escola Técnica da UFRGS, recentemente inaugurado, tenciona trabalhar com embriogênese somática, inicialmente com fins didáticos e futuramente em pesquisa, e para tal pretende desenvolver parcerias.



## Produção de haplóides via androgênese e gimnogênese

---

*Edson Jair Iorczeski (iorcz@cnpt.embrapa.br)*

*Sandra Patussi Brammer (sandra@cnpt.embrapa.br)*

Este informe além de relembrar e enaltecer a importância da técnica de cultura de tecidos, na formulação e na construção da rede de cooperação entre laboratórios de Biotecnologia Vegetal, vinculada ao Programa Integrado de Biotecnologia Vegetal do Rio Grande do Sul – PIBV/RS, mostra o crescimento e as oportunidades oferecidas pelas aplicações deste método biológico de pesquisa. A androgênese e a gimnogênese, objeto deste relato, consistem na excisão, desinfestação e cultura em meio nutritivo, em condições assépticas de anteras e de embriões imaturos, respectivamente. A rede de cooperação estabelecida contribuiu de forma significativa para melhoria do entendimento na obtenção de haplóides e para a produção de plantas duplo-haplóides, bem como na aplicação prática da haplodiploidização (Tabela 1).

Com base nas respostas ao formulário e algumas consultas adicionais, os principais objetivos e utilização da técnica foram divididos e a seguir apresentados em quatro tópicos:

- **Estudos básicos:** Estabelecimento e ajustes de protocolos para obtenção de duplo-haplóides, via androgênese, em aveia, soja, e milho; testes para isolamento e cultivo de micrósoros em soja; estudos de características envolvidas na formação de calos, via cultura de anteras e regeneração de plantas de arroz *in vitro*; cultivo de embriões para obtenção de variantes somaclonais com tolerância a estresses causados pela toxicidade de ferro e temperatura baixa e; estudos fisiológicos e citológicos de anteras de cevada, de trigo e de aveia, previamente incubadas em meio de cultura.
- **Estudos aplicados:** Antecipação da homozigose através da androgênese e da gimnogênese como ferramenta auxiliar nos programas de melhoramento genético de trigo, de cevada, de arroz, de aveia, de tomate e de pimentão e; obtenção de populações segregantes para estudos genéticos e mapeamento gênico das  $\beta$ -glucanases em cevada, da ferrugem da folha, da giberela, da germinação da espiga e da tolerância ao alumínio tóxico em trigo.
- **Formação de recursos humanos:** Treinamento de profissionais e de estudantes nas técnicas relativas aos estudos básicos e seus fatores limitantes e nas atividades de cunho aplicado nas culturas supra mencionadas.
- **Potenciais de parcerias e perspectivas de evolução:** Diversas parcerias são mencionadas entre as instituições citadas. Destaca-se a realizada entre o Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento da UFPel e a Embrapa Clima Temperado para elucidação genética e obtenção de marcadores moleculares em arroz associados a genes de interesse agrônomo, além da melhoria da técnica de cultura de anteras. O Laboratório de Genética Vegetal da UFRGS possui parceria com a AMBEV

e com a Embrapa Trigo nos projetos em cevada, também visando ao aperfeiçoamento da técnica, bem como a potencialidade para que as populações segregantes duplo-haplóides sejam usadas no mapeamento de diversos genes de interesse. No caso de soja, há a colaboração do Departamento de Botânica da UFRGS e a Embrapa Soja. Para milho, o projeto de cultura de anteras está sendo realizado em conjunto com o Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS e com o grupo de fitomelhoramento da UFPel. Especificamente para a cultura de aveia, há a possibilidade de parcerias entre a UPF e pesquisadores da Finlândia e do Canadá, entre outras instituições que trabalham com a mesma cultura e para trigo já existe parceria com a Embrapa Trigo. A URCAMP apresenta a perspectiva de iniciar as atividades com cultivo de anteras em tomate e em pimentão, a partir de 2003, prevendo, também, parceria com uma empresa privada, que atua na área de produção de sementes e mudas. Em relação às demais instituições, trabalhos em parceria entre o IRGA e a Faculdade de Agronomia da UFRGS já estão consolidados para a cultura de arroz e com possibilidade para outros trabalhos cooperativos. Finalmente, potenciais parcerias entre a Embrapa Trigo com outras unidades da Embrapa como Milho e Sorgo, Arroz e Feijão e Recursos Genéticos e Biotecnologia, estão sendo firmadas, visando ao desenvolvimento de populações segregantes duplo-haplóides de trigo e de cevada para uso em biologia molecular, transformação genética e citogenética molecular, além das parcerias com a UFRGS e UPF. Em trigo, cevada e arroz a aplicabilidade prática tem propiciado a antecipação da homozigose e com isso reduzido o tempo necessário para a geração de nova cultivar. Em soja, milho, aveia, tomate e pimentão os estudos básicos estão em andamento com perspectivas de se tornarem rotina aplicadas ao melhoramento genético vegetal em curto ou médio prazo.

**Tabela 1.** Instituições, laboratórios e localidades, técnicas e culturas trabalhadas.

<b>Instituição</b>	<b>Laboratório Localidade</b>	<b>Técnica</b>	<b>Cultura</b>
Universidade Federal de Pelotas - UFPel	Genômica e Fitomelhoramento (Pelotas)	Androgênese Gimnogênese	Arroz e trigo
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS	Genética Vegetal (Porto Alegre)	Androgênese	Cevada, soja e milho
Universidade de Passo Fundo - UPF	Biotecnologia Vegetal (Passo Fundo)	Androgênese	Trigo e aveia
Universidade da Região da Campanha - URCAMP	Biotecnologia Vegetal, Instituto de Biotecnologia de Reprodução Vegetal (Bagé)	Androgênese	Tomate e pimentão
Instituto Rio-Grandense do Arroz - IRGA	Biotecnologia (Cachoeirinha)	Androgênese	Arroz
Embrapa Trigo	Biotecnologia Vegetal (Passo Fundo)	Androgênese Gimnogênese	Trigo e cevada
Embrapa Clima Temperado	Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (Pelotas)	Androgênese	Arroz

## Marcadores moleculares e mapeamento genético

---

Sandra Cristina Kothe Milach ([milach@cnpt.embrapa.br](mailto:milach@cnpt.embrapa.br))

Antônio da Costa Oliveira ([acosta@ufpel.tche.br](mailto:acosta@ufpel.tche.br))

No levantamento feito sobre as aplicações de marcadores moleculares e de mapeamento genético pelos laboratórios do Programa de Biotecnologia Vegetal do Rio Grande do Sul (PIBV/RS), foram identificados 16 que, hoje, possuem atividades com essas técnicas (Tabela 1). Desses, seis laboratórios trabalham com espécies de cereais, quatro com frutíferas, quatro com medicinais, dois com forrageiras e um com *Rhizobium*. Nesse sentido, cabe ressaltar o incremento expressivo nos últimos anos de laboratórios que passaram a atuar com espécies medicinais e cuja principal aplicação de marcadores moleculares tem sido identificar variantes somaclonais e estudar a variabilidade intra e interpopulacional nessas espécies.

Entre as principais aplicações de marcadores moleculares nos laboratórios do PIBV/RS, a caracterização de bancos de germoplasma, os estudos de diversidade genética e a distinção varietal estão em primeiro lugar, sendo realizados por 15 dos 16 laboratórios listados (Tabela 1). Apenas três grupos estão utilizando marcadores para seleção, sendo esses o do Laboratório de Fitopatologia Molecular da UFRGS e o do IRGA, com atividades de seleção para resistência a brusone e retrocruzamento assistido em arroz, respectivamente, e o do Laboratório de Fixação Biológica da Fepagro, empregando marcadores para seleção de estirpes de *Rhizobium*. Além disso, apenas o grupo do Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS está trabalhando na conversão de marcadores moleculares, tendo recentemente desenvolvido marcadores SCAR a partir de AFLPs associados a genes de resistência de planta adulta à ferrugem da folha em trigo.

O mapeamento molecular tem sido objetivo de estudos por seis grupos da rede. O grupo da Embrapa Uva e Vinho tem trabalhos em andamento para mapeamento em videira; o da UCS, em feijão; o da Embrapa Trigo, em trigo; o do Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento da UFPel, em aveia, em arroz, em milho, em trigo, e mapeamento comparativo; o do Laboratório de Genética Vegetal do Departamento de Genética da UFRGS, em cevada; e o do Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Plantas de Lavoura, em aveia, em trigo e em arroz. Apesar de a maioria dos trabalhos de mapeamento estarem em andamento, alguns resultados já obtidos são a construção de um mapa de RAPD e a identificação de dois marcadores para capacidade de regeneração *in vitro* de anteras de arroz; a identificação de dois marcadores AFLP para resistência de planta adulta à ferrugem da folha em trigo, em trabalho conjunto dos grupos da Embrapa Trigo e do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS; e a construção de dois mapas moleculares AFLP e a identificação de quatro QTLs para resistência parcial à ferrugem da folha em aveia.

O presente levantamento evidenciou que uma série de conexões e colaborações efetivas já ocorrem entre os laboratórios de PIBV/RS. Alguns exemplos que devem ser ressaltados são as

interações entre os grupos do Laboratório de Fitopatologia Molecular do Departamento de Fitossanidade e Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Plantas de Lavoura, ambos da UFRGS, com o grupo do IRGA, colaborações essas concretizadas com a orientação de estudantes de pós-graduação na UFRGS, que têm desenvolvido trabalhos com germoplasma de arroz do IRGA, enfocando problemas importantes para o melhoramento da cultura. Da mesma forma, existe forte interação entre o Laboratório de Genética Vegetal do Departamento de Genética da UFRGS e o grupo da Embrapa Trigo, tendo algumas das populações utilizadas para mapeamento em cevada pelo primeiro grupo sido desenvolvidas pelo segundo. A Embrapa Trigo ainda tem desenvolvido trabalhos em conjunto com os grupos da UCS, na distinção varietal de cultivares de trigo por AFLP, e com o Departamento de Plantas de Lavoura, como já citado. Os grupos da UCS e da URI também têm tido forte interação, tendo a UCS formado, em nível de pós-graduação, alguns dos pesquisadores que hoje atuam nessa área na URI. O Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento da UFPel tem desenvolvido trabalhos com a Embrapa Clima Temperado e interage com os grupos da Embrapa Trigo e do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS através do Pronex. Outras conexões aqui não ressaltadas certamente existem. O presente levantamento evidencia um volume substancial de trabalho com marcadores moleculares pelos laboratórios do PIBV/RS, ao mesmo tempo que evidencia espaço para maior integração, especialmente dos grupos que atuam com espécies em comum ou com desafios semelhantes.

**Tabela 1.** Síntese das principais aplicações de marcadores moleculares e mapeamento genético nas atividades de pesquisa realizadas pelos laboratórios do PIBV/RS.

<b>Laboratório Localidade</b>	<b>Espécies Prioritárias</b>	<b>Marcadores Utilizados</b>	<b>Principais Estudos</b>
Biologia Molecular Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves	<i>Vitis vinifera</i> , <i>V. labrusca</i> e <i>V. rotundifolia</i>	RAPD e SSR	Mapeamento de apirenia e resistência a doenças (mildio, antracnose, oídio); determinação de fitopatógenos, identificação de porta-enxertos, análise de variabilidade genética.
Biotecnologia - IRGA, Cachoeirinha	<i>Oryza sativa</i> L.	SSR	Caracterização do banco de germoplasma do IRGA, recuperação do genótipo recorrente em programa de retrocruzamento, seleção assistida para resistência a brusone.
Biotecnologia Vegetal e Microbiologia Aplicada - UCS, Caxias do Sul	<i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i> , <i>Brassica sp.</i> , <i>Cunila galioides</i> , <i>C. incisa</i> , <i>C. spicata</i> , <i>Hesperozygis ringens</i>	RAPD e AFLP	Caracterização de <i>landraces</i> e cultivares comerciais de feijão e tomate; identificação de genes MI de resistência a nematóide em tomate; estudos de variabilidade intro e interpopulacional em várias espécies aromáticas e medicinais nativas; caracterização de variantes somaclonais em lavanda, alecrim e tomilho.
Biotecnologia Vegetal - URI, Erechim	Erva-mate e espinheira santa	RAPD	Caracterização de variabilidade genética.
Biotecnologia Vegetal - Embrapa Trigo, Passo Fundo	<i>Triticum aestivum</i> L.	SSR, AFLP	Mapeamento da resistência à ferrugem da folha, ao vírus do mosaico e tolerância ao alumínio em trigo; distinção varietal e caracterização do banco de germoplasma da Embrapa Trigo.

“Continua...”

"Continuação..."

<b>Laboratório Localidade</b>	<b>Espécies Prioritárias</b>	<b>Marcadores Utilizados</b>	<b>Principais Estudos</b>
Cultura de Células e Tecidos de Plantas - UFPel, Pelotas	Pitanga, arará, orquídeas <i>Cattleya</i> , ameixeira, pessegueiro e nectarineira	RAPD e SSR	Estudos de variabilidade genética em fruteiras nativas, plantas ornamentais, ameixeira, pessegueiro e nectarineira.
Genômica e Fitomelhoramento - Agronomia - UFPel, Pelotas	<i>Oryza sativa L.</i> , <i>Zea mays L.</i> , <i>Avena sativa L.</i> , <i>Triticum aestivum L.</i> , <i>Eulisine sp.</i>	RFLP, AFLP, SSR, ISSR e RAPD	Mapeamento para tolerância ao encharcamento e peso de panícula em aveia; para capacidade de regeneração <i>in vitro</i> de anteras de arroz, para <i>root less</i> em milho; <i>stay green</i> em trigo e mapeamento comparativo.
Biologia Celular - UFPel, Pelotas	Plantas medicinais	RAPD	Identificação de variantes somaclonais e/ou mutantes induzidos <i>in vitro</i> .
Genética e Biologia Molecular - UFPel, Pelotas	Medicinais nativas	RAPD	Identificação de variantes somaclonais e caracterização de ecótipos.
Análises Genéticas - Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia - UFRGS, Porto Alegre	<i>Bromus aulentius</i> , <i>Trifolium repens</i> , <i>T. pratense</i> , <i>Adesmia sp.</i> , <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Medicago sativa</i>	RAPD e SSR	Caracterização da diversidade genética e distinção varietal.
Biotecnologia - Departamento de Plantas de Lavoura - UFRGS, Porto Alegre	<i>Avena sativa L.</i> , <i>Triticum aestivum L.</i> , <i>Oryza sativa L.</i> , <i>Nicotiana tabacum L.</i> , <i>Zea mays L.</i>	AFLP, SSR, SCAR, STS e RAPD	Distinção varietal e estudos de variabilidade em aveia, arroz e fumo; estudos de populações de milho e espécies daninhas; mapeamento molecular e conversão de marcadores moleculares associados à resistência à ferrugem da folha e tolerância ao alumínio em aveia e trigo; mapeamento da tolerância ao frio em arroz.
Fitopatologia Molecular - Departamento de Fitossanidade - UFRGS, Porto Alegre	<i>Oryza sativa L.</i> , <i>Magnaporthe grisea</i>	SSR, RFLP, PCR-RFLP, SNP e PCR baseado em retrotransposons	Seleção assistida em arroz para resistência a brusone; caracterização variabilidade genética de <i>Magnaporthe grisea</i> .
Evolução Molecular - Departamento de Genética - UFRGS, Porto Alegre	<i>Passiflora spp.</i> , <i>Petunia spp.</i>	AFLP e RAPD	Caracterização da diversidade genética e estudos evolutivos em <i>Passiflora</i> e <i>Petunia</i> .
Genética Vegetal - Departamento de Genética - UFRGS, Porto Alegre	<i>Hodeum vulgare L.</i> , <i>Paspalum sp.</i> , erva-mate, <i>Zea mays L.</i>	RAPD e SSR	Caracterização de variabilidade genética em cevada, erva-mate, <i>Paspalum sp.</i> e milho; mapeamento molecular para qualidade de malte e tolerância ao alumínio em cevada.
Laboratório de Fixação Biológica de N - Fepagro, Porto Alegre	<i>Rhizobium sp.</i>	PCR-RFLP e PCR para seqüências específicas	Seleção de estirpes e estudos fitogenéticos de rizóbios da coleção de culturas SEMIA do Centro de Pesquisas de Fixação Biológica da Fepagro.



## **Diagnóstico e caracterização de fitopatógenos e de bactérias fixadoras de nitrogênio**

---

*Osmar Nickel (nickel@cnpuv.embrapa.br)*

A área de diagnóstico e caracterização sorológica e molecular tem projetos em execução em oito laboratórios no Rio Grande do Sul, envolvendo fungos, bactérias e vírus fitopatogênicos. Acrescenta-se ainda o diagnóstico de transgenes em OGMs e o diagnóstico e a caracterização de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio. Os objetivos variam desde a detecção à caracterização sorológica e molecular de microorganismos e vírus, da amplificação e clonagem e expressão de genes virais em sistemas bacterianos, à produção de antissoros policlonais utilizando microorganismos e proteínas virais recombinantes como antígenos.

Na UPF, Laboratório de Virologia, realiza-se o diagnóstico de vírus de cereais de inverno (trigo, aveia, cevada) e de batatas para indexagem de material propagativo produzido na universidade.

O Laboratório de Clínica Vegetal (UFRGS) diagnostica vírus e bactérias fitopatogênicos para emissão de laudos fitossanitários para importações.

O Laboratório de Bacteriologia Vegetal da UPF estuda estirpes de rizóbios para fixação simbiótica de nitrogênio em leguminosas forrageiras nativas por métodos microbiológicos, bioquímicos e fisiológicos, sorológicos (ELISA) e moleculares (PCR). Está desenvolvendo diagnóstico e identificação de *Erwinias* pectinolíticas de batata, feijão e algodão. Produz antissoros próprios.

A Embrapa Trigo, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, realiza o diagnóstico da presença em grãos de soja da proteína CP4 EPSPS por meio de ELISA e por PCR utilizando kits comerciais. Esta proteína é codificada por um gene derivado de *Agrobacterium* sp., que confere resistência ao herbicida glifosato em espécies vegetais transgênicas.

A Embrapa Uva e Vinho diagnostica e caracteriza molecularmente isolados de vírus de videiras e fruteiras temperadas com variantes de ELISA, western blots, amplificação por RT-PCR e IC-RT-PCR e biologicamente em indicadoras herbáceas e lenhosas. Genes (parciais e completos) de isolados regionais de vírus de videiras e de macieiras sequenciados já estão depositados em banco de dados. Estão sendo produzidas matrizes livres de vírus de macieiras e videiras por termoterapia e cultura de meristemas. A clonagem de genes virais e sua expressão em sistemas recombinantes em *Escherichia coli* é usada para produção de antissoros policlonais, inicialmente contra vírus de macieiras.

A aglutinação direta, além de técnicas bioquímicas e moleculares, é usada na Fepagro, Laboratório

de Fixação Biológica de Nitrogênio, para a caracterização e diferenciação de estirpes de rizóbios indicadas para a produção de inoculantes em soja, feijão, ervilha, feijão-de-corda, amendoim, alfafa, trevos e leguminosas arbóreas utilizadas em programas de reflorestamento. Especial atenção é dedicada à produção de antissoros para a identificação de estirpes. O laboratório executa as análises de inoculantes comerciais e estuda a ecologia de estirpes de rizóbios quanto a sua eficácia de fixação de nitrogênio. Na Fepagro encontra-se em início de funcionamento o Laboratório de Fitopatologia, que deve dedicar-se ao diagnóstico de patógenos em citros, videiras e rosáceas por ELISA e PCR.

Fungos, bactérias, vírus e nematóides fitopatogênicos de arroz, soja, batata, batata-doce, alho e fruteiras são diagnosticados por ELISA, PCR e microscopia eletrônica em vários laboratórios da Embrapa Clima Temperado. A instituição produz antissoros contra bactérias e vírus de fruteiras, batata e alho, entre outros.

**Tabela 1.** Sinopse de instituições e atividades de diagnóstico de fitopatógenos e caracterização de microrganismos no Rio Grande do Sul.

Instituição	Laboratório	Espécies Vegetais	Fitopatógenos/ organismos e estudos conduzidos	Técnicas Utilizadas	Responsável
Universidade de Passo Fundo - UPF, Passo Fundo	Bacteriologia Vegetal	<i>Trifolium spp.</i> , <i>Adesnia latifolia</i> <i>Solanum tuberosum</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Gossypium spp.</i>	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora E. chrysanthemi</i> <i>E.c. subsp. citroseptica</i> <i>E.c. brasiliensis</i>	microbiológicas bioquímicas fisiológicas ELISA PCR Produção de antissoros	Norimar Denardin
Embrapa Trigo, Passo Fundo	Bioteχνologia Vegetal	<i>Glycine max</i>	Diagnóstico de transgenes, CP4 EPS P5, resistência a glifosato	PCR ELISA	Ana C. A. Zanatta
Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves	Virologia	<i>Vitis spp.</i> <i>Malus spp.</i> <i>Pyrus spp.</i>	GFLV, GVA, GVB, ASGV, ASPV, ACLSV, ApMV diagnóstico e caracterização molecular expressão de genes vitais em <i>E. coli</i>	RT-PCT Western blot ELISA dot-ELISA ds-RNA clonagem Produção de antissoros Termoterapia Indexagem biológica	Thor V. M. Fajardo



"Continuação..."

Instituição	Laboratório	Espécies Vegetais	Fitopatógenos/ organismos e estudos conduzidos	Técnicas Utilizadas	Responsável
Embrapa Clima Temperado, Pelotas	Fitopatologia	<i>Allium</i> spp.	<i>Xylella fastidiosa</i>	ELISA	L. A. S. de Castro
	Virologia	<i>Malus</i> spp.	<i>Xanthomonas</i>	(RT-)PRC	
	Microscopia	<i>Pyrus</i> spp.	<i>pruni</i>	Micr. Eletrônica	Produção de antissoros
	Eletrônica	<i>Rubus</i> spp.	<i>Ralstonia</i>		
	Micologia	<i>Fragaria</i> spp.	<i>solanacerum</i>		
	Nematologia	<i>Oryza sativa</i> <i>Glycine max</i> <i>S. tuberosum</i> <i>Ipomoea</i> spp.	<i>Erwinia</i> spp. <i>Meloidogyne</i> spp. PVY, PVX, PVS, PLRV, PDV, PNRSV, ASPV, ASGV, ACLSV, ApMV, GYMV		
Fepagro, Porto Alegre	Fixação	<i>Glycine max</i>	<i>Rhizobium</i> spp.	Produção de antissoros, aglutinação direta	Andréia R. de Oliveira
	Biológica de Nitrogênio	<i>Phaseolus</i>	<i>R. tropici</i> , <i>R. etli</i>		
		<i>vulgaris</i>	<i>B. japonicum</i>		
		<i>Pisum sativum</i>	<i>B. elkanii</i>		
		<i>Trifolium</i> spp.	Eficácia de		
		<i>medicago</i> spp.	fixação de		
<i>Arachis</i>	nitrogênio,				
<i>hypogaea</i>	Ecologia de rizóbios Laudos inoculantes comerciais				
Fepagro, Porto Alegre	Fitopatologia	<i>Citrus</i> spp.	Em início de	ELISA	Ricardo Pfeiffer
		<i>Vitis</i> spp.	funcionamento	PCR	
		<i>Rosaceae</i>			
UFRGS, Porto Alegre	Clínica Vegetal	<i>Nicotiana</i>	Virus Y	(RC-)PCR	Valmir Duarte
		<i>tabacum</i>	necrótico fumo		
		<i>S. tuberosum</i>	<i>Agrobacterium</i>		
		<i>Vitis</i> spp.	<i>vitis</i>		
		<i>Citrus</i> spp.	<i>Xanthomonas</i>		
		<i>Apis mellifera</i>	<i>axonopodis</i> pv. <i>citri</i> <i>Paenabacillus</i> <i>larvae</i> subsp. <i>larvae</i> , detecção em mel		



## Genes, genômica e bioinformática

---

Luis Fernando Revers ([luis@cnpuv.embrapa.br](mailto:luis@cnpuv.embrapa.br))

Giancarlo Pasquali ([pasquali@dna.cbiot.ufrgs.br](mailto:pasquali@dna.cbiot.ufrgs.br))

Janette Palma Fett ([jpffett@dna.cbiot.ufrgs.br](mailto:jpffett@dna.cbiot.ufrgs.br))

Baseando-se nas informações a partir de relatos dos laboratórios atuantes em Biotecnologia Vegetal no RS constatou-se que oito grupos vem desenvolvendo pesquisas em isolamento, função e expressão gênica, genômica estrutural e funcional e bioinformática (análises *in silico*) no Estado do Rio Grande do Sul. Pelo menos 14 espécies vegetais são estudadas com objetivos e metas variadas, incluindo espécies de lenhosas (*Eucalyptus* spp.), herbáceas/arbustivas (*Psychotria brachyceras*, *P. umbellata* e *Ricinus communis* – mamona), gramíneas (*Saccharum officinarum* – cana-de-açúcar, *Hordeum vulgare* – cevada, *Triticum aestivum* – trigo e *Oryza sativa* – arroz), leguminosas (*Glycine max* – soja e *Canavalia ensiformis* – feijão-de-porco), hortaliças (*Lycopersicon* sp. – tomate e *Cucumis* sp. – melão) e de fruteiras (*Malus* sp. – maçã e *Prunus* sp. – pêssego). Os genes e famílias gênicas investigados nestas espécies estão associados a diversos processos e funções biológicas como: metabolismo de ligninas, metabolismo de alcalóides, ureases letais a insetos, promotores/terminadores para transcrição sítio – e tempo-dirigida, resistência a brusone em arroz, metabolismo/homeostase e tolerância a metais, enzimas de hidrólise da parede celular e tolerância ao encharcamento em arroz. Outras espécies de interesse da biotecnologia vegetal fornecem genes ou são investigadas pelo potencial de aplicabilidade agrônômica como o fungo *Trichoderma* spp. (genes de quitinases para controle de fitopatologias causadas por fungos) e as bactérias *Bacillus thuringiensis* (genes de endotoxinas letais a insetos), *Ralstonia eutropha* (genes para produção e acúmulo de poliésteres biodegradáveis em plantas) e *Azospirillum* sp. (microrganismos diazotróficos fixadores de nitrogênio). As iniciativas em biologia genômica estrutural e funcional estão sendo desenvolvidas em *Eucalyptus* spp., em arroz e em fase de projeto para trigo. Na UFRGS, estão em andamento atividades para seqüenciamento do genoma funcional (ESTs) de diferentes espécies de eucalipto, como parte do projeto nacional em rede GENOLYPTUS. Na UFPel, 1Mb do cromossomo 9 do arroz (entre as regiões de 83,2 e 90,4 cM) está sendo estruturalmente seqüenciado em parceria com o *International Rice Genome Sequencing Project* (IRGSP). Na Embrapa Trigo, está previsto o seqüenciamento de uma parte do genoma funcional de raízes de trigo, visando a identificação de genes relacionados à tolerância ao alumínio. As técnicas e ferramentas utilizadas para execução destas atividades incluem: técnicas associadas à tecnologia do DNA recombinante, *Western blots*, reação em cadeia da polimerase (PCR), seqüenciamento de DNA, construção de bibliotecas genômicas e de cDNA, RT-PCR, display diferencial, cDNA-AFLP, macroarranjos de cDNA, mutagênese, transformação, *data-mining* de bancos de seqüências, anotação de seqüências genômicas, filogenia molecular *in silico*, análise de mutações de ponto (SNPs), e de polimorfismos conformacionais de fita simples (SSCP). Todos os projetos em andamento apresentam relações de colaboração intra e inter-institucional e, neste último caso, com outras universidades do Estado,

em outros Estados e fora do país. As informações contidas neste resumo correspondem às atividades dos seguintes grupos de pesquisa:

-Dr. Antonio Costa de Oliveira – Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento, UFPel. e-mail: [acosta@ufpel.tche.br](mailto:acosta@ufpel.tche.br)

-Dr. Arthur Germano Fett Neto – Laboratório de Fisiologia Vegetal, UFRGS. e-mail: [fettneto@dna.cbiot.ufrgs.br](mailto:fettneto@dna.cbiot.ufrgs.br)

-Dr. César Valmor Rombaldi – Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, UFPel. e-mail: [cesarvrf@ufpel.tche.br](mailto:cesarvrf@ufpel.tche.br)

-Dr. Giancarlo Pasquali – Laboratório de Biologia Molecular Vegetal, UFRGS/Cbiot. e-mail: [pasquali@dna.cbiot.ufrgs.br](mailto:pasquali@dna.cbiot.ufrgs.br)

-Dra. Janette Palma Fett – Laboratório de Fisiologia Vegetal, UFRGS. e-mail: [jpfett@dna.cbiot.ufrgs.br](mailto:jpfett@dna.cbiot.ufrgs.br)

-Dra Luciane M. P. Passaglia – Laboratório de Microrganismos Diazotróficos, UFRGS/Cbiot. e-mail: [luciane@dna.cbiot.ufrgs.br](mailto:luciane@dna.cbiot.ufrgs.br)

-Dr. Marcelo Gravina de Moraes – Laboratório de Fitopatologia Molecular, UFRGS. e-mail: [mgm@ufrgs.br](mailto:mgm@ufrgs.br)

-Dra. Sandra Cristina Kothe Milach – Embrapa Trigo. e-mail: [milach@cnpt.embrapa.br](mailto:milach@cnpt.embrapa.br)

## Transformação genética

---

Cesar V. Rombaldi ([cesarvrf@ufpel.tche.br](mailto:cesarvrf@ufpel.tche.br))

Maria Helena Zanettini ([maria.zanettini@ufrgs.br](mailto:maria.zanettini@ufrgs.br))

Baseando-se no diagnóstico realizado a partir dos relatos feitos pelos laboratórios que atuam em biotecnologia vegetal, constatou-se que: a) oito laboratórios realizam testes de transformação genética de plantas; b) as vias de transformação empregadas são *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rzyogenensis*, e biobalística; c) os genes marcadores incluem princípios baseados em resistência a antibióticos e herbicidas, indução de atividade enzimática e respostas fisiológicas; d) os objetivos e metas são variados, incluindo desde o estudo da expressão gênica à obtenção de produto tecnológico; e) os modelos vegetais incluem, de maneira geral, espécies de interesse regional, de ciclo anual e perenes; f) as fases de evolução dos trabalhos variam, desde ensaios especulativos até produtos em fase de avaliação de qualidade; e, g) os laboratórios estão adequando-se às especificações técnico-legais exigidas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Três laboratórios já têm CQB. Das instituições pesquisadas, quatro vêm atuando, dentre outras atividades de pesquisa em biotecnologia, com transformação genética de plantas (Embrapa Trigo, UFPel, UFRGS e UNISINOS). Na UFRGS está sendo projetada a implementação de trabalhos com milho e aveia, visando a introdução de gene *vsp-B* envolvido com o incremento de proteína de reserva. Esse trabalho está na fase de projeto. Também nessa instituição, estão sendo realizados ensaios de transformação em arroz e fumo, visando estudos de expressão e funcionalidade de genes envolvidos na resistência a doenças e tolerância a metais pesados. A pesquisa está em fase laboratorial. Na Embrapa Trigo, os trabalhos estão concentrados na transformação genética do trigo, via biobalística, com projeção de expansão para cevada, incluindo, também, transformação via *Agrobacterium*. Os eixos temáticos estão direcionados para a melhoria de respostas a estresses bióticos (um gene de resistência a fungos) e abióticos (um gene de tolerância à deficiência hídrica); estudo de desenvolvimento (um gene); e de qualidade para panificação (um gene). Das ações implementadas já estabeleceram-se as condições para a obtenção de elevadas taxas de transformação e selecionaram-se genótipos com potencial para a transformação. Na UFPel, dois laboratórios associados atuam em transformação genética, incluindo tomateiro, meloeiro, arroz, batata, roseira e macieira. As transformações são realizadas via *Agrobacterium* e biobalística. Os trabalhos buscam resistência a vírus e fungos (em batata), aumento de vida de prateleira (em frutas e flores) e estudo da funcionalidade de genes (tomate e arroz). Dois produtos já foram gerados e estão em estudo agrônomico em condições de contenção (batata e melão). Na UFRGS estão concentrados os demais trabalhos que realizam transformação genética de plantas (soja e cevada). À semelhança dos laboratórios anteriores, os métodos empregados são *Agrobacterium* e biobalística, e os genes marcadores são GUS, *hpt*, *chit1* e *cry lac*. De maneira geral, os trabalhos realizados na UFRGS buscam otimizar protocolos de transformação, obter resistência a insetos e fungos, e tolerância a alumínio. Um trabalho adicional, em fase preliminar, tem sido feito buscando a transformação de *Psycotria* e de erva-mate, com *A. rzyogenes*, visando o aumento de raízes adventícias e modificação do metabolismo de alcalóides, respectivamente. Para a maioria das ações, os protocolos de regeneração e transformação estão calibrados.



## **Extração de óleos essenciais por hidrodestilação, arraste a vapor e extração supercrítica, e caracterização química por técnicas cromatográficas**

*Ana Cristina Atti dos Santos (acsantos@ucs.br)*

*Luciana Atti Serafini (laseraf@ucs.br)*

Os óleos essenciais podem ser definidos como o material volátil presente em plantas e, geralmente, de odor e fragrância características. São misturas complexas de terpenos, terpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. Também podem conter pequenas quantidades de diterpenos e outros componentes, que variam em função da planta, que podem ser classificados em uma família de compostos. São matérias-primas de destaque na indústria de perfumes, cosmética e de fármacos. O aroma é usualmente resultado de complexas interações que ocorrem entre os diversos componentes presentes nos vegetais, logo a correta reprodução da fragrância natural em um extrato é relativamente difícil. A presença de componentes termolábeis e a possibilidade de hidrólise e de hidrossolubilização são sérios obstáculos na reprodução de fragrâncias naturais.

No que se refere à extração dos óleos essenciais, três processos merecem destaque. Em escala laboratorial, a hidrodestilação e a extração com CO<sub>2</sub> supercrítico concentram os estudos, enquanto em escala industrial, a destilação por arraste a vapor e a extração supercrítica dominam os processos de obtenção de óleos essenciais. O método de extração influencia diretamente na reprodução fiel das fragrâncias naturais das matérias-primas vegetais.

- **Hidrodestilação:** O princípio deste método consiste em evaporar uma mistura de vapor d'água e componentes voláteis presentes na matéria vegetal. Estes compostos são posteriormente condensados. Devido à imiscibilidade dos compostos orgânicos em água e a formação de duas fases líquidas é possível separar as correntes efluentes. Em escala laboratorial utiliza-se tradicionalmente o aparelho Clevenger. O principal problema relacionado é este processo é o contato direto entre a água quente e a planta *in natura* por um longo tempo. A consequência é a possível degradação dos compostos termossensíveis responsáveis pela fragrância dos óleos essenciais obtidos. A importância do uso da hidrodestilação é que as informações de processo e as propriedades dos produtos obtidos servem de base para o desenvolvimento do processo industrial de destilação por arraste a vapor. Os principais resultados obtidos são o tempo de processo, composição do óleo essencial e rendimento.

- **Destilação por arraste a vapor:** A destilação por arraste a vapor é o processo mais utilizado pela indústria essenciera. Esta operação unitária está baseada na diferença de solubilidade de determinados compostos presentes na matéria-prima vegetal em vapor. A indústria prefere a destilação por arraste a vapor devido a sua maior simplicidade e economia, pois permite tratar de uma única vez quantidades significativas de matéria-prima. O processo de destilação utiliza uma

caldeira, um extrator ou destilador (onde é colocada a matéria vegetal), condensador e frasco de coleta, denominado vaso florentino. O aquecimento do sistema é feito por fogo direto ou pela utilização de caldeiras geradoras de vapor que fornece vapor superaquecido que é injetado diretamente na parte inferior do extrator. Os extratores são geralmente cilíndricos de aço inoxidável, para garantir a passagem uniforme de vapor d'água através da matéria-prima e para facilitar a carga e a descarga; são vedados com tampa ligeiramente cônica, com tubo curvo ou angular que se assemelha a um colo de cisne que deve ser curto para evitar retornos de condensados para o extrator. A distribuição da matéria-prima no extrator deve ser feita de maneira que permita o maior contato superficial entre esta e o vapor. O tempo de processo é determinado por fatores técnicos e econômicos. Em relação à composição química da essência, se a extração for rápida, o produto apresentará os constituintes mais voláteis, porém destituído das melhores características. Se a extração for prolongada, o custo da essência será mais elevado e o produto apresentará compostos não apreciáveis. A experiência tem determinado para cada planta o momento de cessar o processo, obtendo-se um produto de qualidade e menor custo.

• **Extração com fluidos supercríticos:** A extração supercrítica pode ser definida como a solubilização de determinados compostos de uma matriz sólida ou líquida em um solvente em condições supercríticas. Os conceitos de eficiência e solubilidade foram os propulsores para o crescente interesse da comunidade científica e do setor industrial em relação aos processos de extração supercrítica. Como principal justificativa, indica-se as propriedades dos fluidos nas condições supercríticas, que englobam as vantagens dos fluidos nos estados líquido e vapor, simultaneamente, quanto à solubilidade e aos aspectos relacionados às propriedades de transporte. Quando comparados aos métodos tradicionais de extração e separação, verifica-se que o processo em questão apresenta características importantes que justificam um aumento de interesse por esta operação unitária nos últimos anos: a) o elevado potencial de solubilização de compostos orgânicos de médios e elevados pesos moleculares em fluidos supercríticos, em relação à solubilidade dos mesmos na fase vapor; b) as baixas temperaturas críticas de determinados solventes supercríticos, que permite a extração de produtos termosensíveis, sem que ocorra alteração nas propriedades dos compostos obtidos; c) a eficiência energética do processo, pois opera a baixas temperaturas, quando comparado aos processos tradicionais de extração de óleos essenciais, como é o caso da destilação por arraste a vapor, e d) a facilidade de separação solvente soluto. A extração com fluidos supercríticos, em escala industrial, teve seu início na Alemanha, no final da década de 70, com o processo de descafeinação do café. Este empreendimento inovador e os que o seguiram foram consequência das exigências de um mercado consumidor de produtos com características especiais, normalmente relacionadas com a saúde como produtos sem colesterol, com baixo teor de gorduras e sem cafeína. Ainda a extração com fluidos supercríticos utiliza uma tecnologia limpa que não gera subprodutos residuais, trabalha com solventes atóxicos ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , entre outros) e a elevada capacidade de solubilização dos fluidos supercríticos.

Muitas técnicas são utilizadas para verificar as propriedades dos óleos essenciais, entre as mais comuns podemos citar a medida da densidade, o índice de refração, o desvio polarimétrico, o resíduo de evaporação e a solubilidade em etanol. Por outro lado, estes índices não permitem avaliar a natureza química dos compostos presentes no óleo essencial, sendo necessárias técnicas analíticas apropriadas, como é o caso da cromatografia gasosa e cromatografia acoplada a detecção seletiva da massa. A importância da cromatografia tem aumentado nos últimos anos em função da evolução dos equipamentos, principalmente os detectores e as colunas cromatográficas que permitiram uma maior eficiência na separação, identificação e quantificação dos compostos dos óleos essenciais.



• **Cromatografia gasosa:** A cromatografia gasosa apresenta como princípio a separação dos componentes voláteis de um líquido, o qual é volatilizado em uma coluna cromatográfica formada por uma fase estacionária, onde se processa a separação da amostra, visto que alguns compostos são adsorvidos, enquanto outros são arrastados pela fase móvel que é composta normalmente pelos gases hidrogênio e hélio. Os componentes são separados devido a diferença dos coeficientes de partição, isto é, os compostos que apresentam maior afinidade com a fase estacionária apresentam os maiores tempos de retenção. Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis, o que exige uma otimização dos procedimentos cromatográficos a serem empregados, tais como a seleção adequada da coluna, da fase estacionária, das condições operacionais da fase móvel, do programa de temperatura, entre outras condições. A técnica cromatográfica oferece um forte indicativo quanto ao composto relacionado a cada pico, entretanto não consiste em uma técnica de identificação absoluta. Porém, quando já identificado o componente relativo ao pico, esta técnica é eficiente na quantificação, sempre que usado um padrão como referência.

• **Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa:** Esta técnica tem por objetivo a determinação dos componentes presentes nas amostras dos óleos essenciais. O espectro de massa de cada componente é detectado e a partir dos dados obtidos é possível identificar o composto químico a partir de bibliotecas de espectros comerciais que podem fornecer a decomposição obtida no equipamento para mais de 300.000 compostos. Os dados obtidos como resposta do equipamento não podem ser considerados suficientes para a identificação, visto que compostos de estrutura química semelhante podem apresentar espectros de composição semelhantes. Para resolver estes problemas deve-se realizar uma co-injeção com amostras padrão dos compostos que permitam a comparação dos seus tempos de retenção.

No Laboratório de Óleos Essenciais, da UCS, as atividades desenvolvidas são: extração de compostos voláteis presentes em plantas aromáticas e medicinais por hidrodestilação, arraste a vapor e extração supercrítica; determinações quali-quantitativas de compostos químicos presentes em óleos essenciais por cromatografia gasosa, cromatografia líquida e espectrometria de massas; caracterização de compostos não-voláteis presentes em plantas aromáticas e medicinais através de técnicas cromatográficas (cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência); determinação das características físico-químicas de óleos essenciais (densidade, índice de refração, viscosidade, desvio polarimétrico, ponto de ebulição, solubilidade em solventes orgânicos, residuo de evaporação, teor de água, teor de metais pesados, falsificação pelo álcool, falsificação por solventes voláteis, índice de acidez).

No Centro Tecnológico, da URI, no Campus de Erechim, é feita a extração, a caracterização e o fracionamento de óleos essenciais de espinheira-santa, alfavaca, citronela, laranja e menta.



## **Projeto de Extensão: Programa de Apoio às Escolas Técnicas**

---

*Ana Izaura Pereira Flores (izaura@etcom.ufrgs.br)*

Atendendo a uma demanda das Escolas Agrotécnicas Federais, a Escola Técnica da UFRGS, através do projeto de extensão *Programa de Apoio às Escolas Técnicas* promove cursos de capacitação, na área de Biotecnologia Vegetal, objetivando a qualificação de docentes.

Os cursos são ministrados por docentes e pesquisadores da UFRGS, UFPel, UFSM, UPF e da EMBRAPA, em suas mais diversas especialidades, o que resultou em um protocolo de intenções que visa não só a formação de recursos humanos mas também a troca de experiências didático-pedagógicas e a oportunidade de campos de estágio para alunos, objetivando uma integração no Programa Integrado de Biotecnologia Vegetal do RS (PIBV/RS).

Desde o ano de 2000 já foram ministrados cursos de 40 h de micropropagação e eletroforese enfocando aspectos gerais das técnicas com a participação de docentes da UFRGS, UFSM, Embrapa Trigo e Embrapa Uva e Vinho. Estas mesmas técnicas serviram de treinamento, aos docentes de Escolas Agrícolas, que acompanharam os experimentos na Embrapa Trigo, UPF e na Embrapa Uva e Vinho. Também foram abordados, além destes temas, a caracterização de genomas e transformação em plantas na área de fruticultura e horticultura, desenvolvidos por docentes da UFRGS, UFPel, UFRGS, URCAMP e pesquisadores da Embrapa Clima Temperado.



## **Pesquisa documental, bibliográfica e jurisprudencial acerca da efetivação do princípio de precaução na União Européia**

---

*Lisiane Gravina Kunzler (professoralisiane@hotmail.com)*

A globalização tem se mostrado uma tendência mundial irreversível, apesar de diversos grupos manifestarem-se contrariamente, o que por si só fundamenta o entendimento exposto. Neste contexto, o desenvolvimento da biotecnologia vegetal, assim como variados setores estão sujeitos às novas regras previstas neste jogo global, vem recebendo regulamentações a nível europeu. Seria ingênuo assegurar que as decisões européias adotadas neste âmbito não repercutiriam neste setor no Brasil. Pode-se dizer mais, seria um erro, porque a produção de conhecimentos nos meios europeus, pelo menos, influencia na tomada de posição brasileira, quando não define a postura a ser adotada.

Corroborou para escolha deste objeto de estudo a produção ainda incipiente de conhecimento no Direito brasileiro acerca do princípio de precaução. Tendo este princípio origem no Direito germânico, seria curioso ser diferente. A aplicabilidade imediata e o efeito direto, características do Direito Comunitário, que simplificando tornam suas regulamentações aplicáveis diretamente nos ordenamentos jurídicos dos Estados-membros, com dispensa de qualquer formalidade de incorporação, além dos direitos previstos nelas poderem ser exigidos pelos cidadãos perante os tribunais nacionais, também foram decisivos para esta pesquisa ter enfoque na União Européia.

Ademais, inquieta o estudioso em matéria ambiental as circunstâncias pelas quais a precaução, aparentemente apenas uma postura pessoal ou social, passou ao patamar de princípio jurídico. À primeira vista, o sentido do termo parece óbvio, identifica-se como uma questão de bom senso individual ou coletivo. No entanto, a partir das fontes pesquisadas, observa-se que a precaução passou de uma mera postura para um dever do Estado. Neste estudo, especificamente, não se pode falar em dever de um Estado relativamente à União Européia, mas refere-se à adoção de regulamentações e decisões judiciais, baseadas no princípio da precaução, quase continentais, especialmente considerando as próximas adesões anunciadas para 2004.

A noção de precaução surgiu no final da década de 70, pela primeira vez. Todavia, a primeira manifestação no Direito da União Européia ocorreu apenas na década de 90. Desde então, encontram-se diretivas, espécies de instrumentos jurídicos comunitários que definem metas a

serem alcançadas pelos Estados-membros pelos meios que eles considerarem convenientes, resoluções, instrumentos com caráter não-compulsório, e diversos julgados do Tribunal de Justiça das Comunidades Européias com referências expressas à adoção deste princípio.

Enfim, observa-se que está havendo uma tentativa de uniformizar a interpretação, o alcance e a limitação do princípio da precaução no Direito Comunitário. Contudo, este empenho mostra-se insuficiente para o alcance destes objetivos.

# Embrapa

## Uva e Vinho

Apoio:



Patrocínio:



**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**