

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"

PET - BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA

RELATÓRIO Nº 3

Goran Kuhar Jesovsek

Roberto Pedroso de Oliveira

PIRACICABA
Estado de São Paulo-Brasil
agosto - 1990

RELATÓRIO SEMESTRAL DE ATIVIDADES
PROGRAMA ESPECIAL DE TREINAMENTO
PET - BIOTECNOLOGIA

I - Identificação do Programa

Universidade: Universidade de São Paulo/Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz"

Implantação do PET: fevereiro de 1989

Departamento: Departamento de Genética

Tutor: Flávio Cesar Almeida Tavares

Relatório nº 3: Período fevereiro/agosto de 1990

II - Informações sobre os bolsistas

1 - Relação nominal

Goran K. Jezovsek	9º semestre
Roberto P. Oliveira	9º semestre

2 - Desempenho acadêmico na graduação

2.1.

Nome	Semestre anterior	Média
G.K. Jezovsek	9º	6,8
R.P. Oliveira	9º	9,0

Observação: Em anexo, notas das disciplinas cursadas no semestre anterior.

2.2. Justificativas para o declínio no rendimento

Não houve declínio no rendimento do grupo ou bolsista em particular.

2.3. Apreciação do Professor-tutor sobre o desempenho do Grupo no semestre

Dois participantes saíram do grupo, pelo fato de se graduarem e ingressarem no mestrado do CPG em "Genética e Melhoramento de Plantas". Não foi efetivada a substituição de ambos devido às incertezas quanto à continuidade do programa. Os dois participantes restantes, R.P. Oliveira e G.K. Jesovsek, continuaram com suas atividades, desenvolvendo-as com a mesma motivação e dedicação. Esperamos recompor o grupo em breve e retornar às atividades coletivas.

III - Desempenho dos bolsistas no programa especial de treinamento

1.1. Reuniões do grupo com o tutor

01/03/90: Duração: 01 hora

Participantes: todos os bolsistas

Pauta: Avaliação dos trabalhos realizados

Programação semestre

26/03/90: Duração: 01 hora

Participantes: todos os bolsistas

Pauta: Programação individual semestre

Discussão perspectivas

20/06/90: Duração: 02 horas

Participantes: todos os bolsistas

Pauta: Programação para as férias escolares

12/08/90: Duração: 02 horas

Participantes: todos os bolsistas

Pauta: Elaboração do relatório semestral

14/08/90: Duração: 02 horas

Participantes: todos os bolsistas

Pauta: Avaliação sobre o relatório semestral

1.2. Palestras de outros profissionais

10/04/90: Instituto de Ciências Biológicas - USP

Prof.: Walter Handro

Participante: Goran Kuhar Jesovsek

Tema: Atividades do IB no tocante à cultura de tecidos vegetais

17/07/90: Instituto de Ciências Biomédicas - USP

Prof.: Sérgio Olavo Pinto da Costa

Participante: Goran Kuhar Jesovsek

Tema: Engenharia genética em bactérias

22/06 a 10/08/90: Diversas palestras nas universidades americanas, as quais serão detalhadas em relatório posterior
Participante: Roberto P. Oliveira

1.3. Monografias

1.3.1. Orientador: F.C.A. Tavares

Bolsista: G.K. Jesovsek

Título: "Transformação com Agrobacterium rhizogenes"

Fase atual: Conclusão

Objetivo: Identificar os vegetais transformantes com base em diferenças protéicas com os originais

1.3.2. Orientador: F.C.A. Tavares

Bolsista: R.P. Oliveira

Título: "Estudos sobre a cultura dos citros"

Fase atual: Conclusão

Objetivo: Aquisição de conhecimentos sobre todas as fases da cultura, visando levantar seus diferentes problemas, procurando temas para uma pós-graduação no assunto

1.4. Estágios

. Estágio de quatro dias em uma fazenda do Texas-EUA, julho/90

Objetivo: Acompanhamento das atividades agrícolas da fazenda, relacionadas às culturas de milho e sorgo

Participante: R.P. Oliveira

. Estágio de quatro dias em uma fazenda do Estado de Kansas-EUA - julho/90

Objetivo: Acompanhamento das atividades agrícolas da fazenda, relacionadas às culturas de trigo e cevada

Participante: R.P. Oliveira

1.5. Leituras

OLD, R.W. & PRIMROSE, S.B. Principles of gene manipulation. Blackwell, Londres. 1989.

CAPLAN, A. et alii. Introduction of genetic material into plant cells. Science, 222: 815-21, 1983.

BIROT, A.M. et alii. Studies and uses of the Ri plasmids of Agrobacterium rhizogenes. Plant Physiol Biochem., 25: 323-35, 1987.

ROBAGLIA, C. et alii. Expression vectors based on the Agrobacterium rhizogenes Ri plasmid transformation system. Biochimie, 69: 231-7, 1987.

DE BLOCK, M. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (Solanum tuberosum) using Agrobacterium tumefaciens. Theor. Appl. Genet., 76: 764-74, 1988.

HANISCH TEN CATE, C.H. et alii. Regeneration and characterization of plants from potato root lines transformed by Agrobacterium rhizogenes. Theor. Appl. Genet., 75: 452-9, 1988.

1.6. Visitas

Universidade da Flórida, Universidade Estadual da Louisiana, Universidade Texas Tech, Universidade de Nebraska, Monsanto Co., Dow Co., Universidade Estadual de Ohio, U.S.D.A., Universidade Estadual da Carolina do Norte, Universidade da Califórnia, de Los Angeles, San Diego e Berkeley e Universidade de Stanford (EUA)

Participante: R.P. Oliveira

Objetivo: Ter contato com a atividade científica e agrícola dos Estados Unidos da América

Maiores detalhes: em anexo (programa de viagem)

1.7. Estudo de língua estrangeira

G.K. Jesovsek - Inglês completo

R.P. Oliveira - Curso básico completo

1.8. Outras atividades

GORAN KUJAR JESOVSEK

. Atividades realizadas

1.8.1. Trabalho de pesquisa

Concluída a primeira fase de estudos com N. tabacum, estão sendo feitos os estudos necessários para iniciar os trabalhos com Solanum tuberosum, que estão em fase inicial.

1.8.2. Trabalho publicado

ECHEVERRIGARAY, S. & JESOVSEK, G.K. Variações protéicas em transformantes de tabaco com A. rhizogenes. Anais do XXXVI Congresso Nacional de Genética (no prelo).

1.8.3. Cursos

- . BMP-101: Metodologia do DNA recombinante e expressão gênica. Realizado no Instituto de Ciências Biomédicas da USP, sob a orientação da Profa. Lucile Maria Floeter-Winter (relatório em anexo)

1.9. Apreciação sobre o aproveitamento do grupo

Como mencionado, o grupo teve seu efetivo reduzido à metade e devido à definição do interesse individual, foi incentivada a atividade específica. Como se observa neste relatório, os estudantes mantiveram o mesmo padrão de interesse, superando as dificuldades surgidas no período e, principalmente, fortalecendo-se sua atividade individual.

IV - Considerações sobre o relacionamento do grupo

- 1 - Entre si: as atividades conjuntas foram menos intensas, mas mesmo assim, houve oportunidades de integração, com manifestações de coleguismo e espírito de colaboração.
- 2 - Com o tutor: excelente, todos demonstrando interesse, vontade e dedicação, desempenhando suas atividades a contento e sob clima amigável e sincero.
- 3 - Com outros alunos que não pertencem ao PET: excelente, inclusive aproximando outros colegas, que também participaram de algumas atividades conjuntas.
- 4 - Com o corpo docente da ESALQ: excelente, pois são bons alunos, interessados e dedicados.

V - Resultados propiciados pelo PET

No período tivemos que superar as incertezas de continuação do programa e, por cautela, não efetuamos a substituição dos dois bolsistas que se retiraram. As atividades individuais foram incentivadas, mas com maior ênfase na formação teórica e menor volume de atividades de laboratório. As oscilações decorrentes da instabilidade econômica afetam ao programa, como também as demais atividades de ensino e pesquisa. Apesar disto, os resultados foram considerados bons, especialmente como decorrência do interesse dos alunos.

VI - Planejamento das atividades para o próximo semestre

. Goran Kuhar Jesovsek:

- Conclusão do trabalho de transformação
- Conclusão da monografia

. Roberto Pedroso de Faria

- Continuidade dos estudos sobre a cultura dos citros
- Avaliação da viagem aos EUA
- Difusão dos resultados da viagem aos EUA
- Cursos de informática no Centro de Informática na Agricultura (CIAGRI)
- Definição da tese de Mestrado.



SAG/549-90

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
 CAMPUS DE PIRACICABA
 ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"



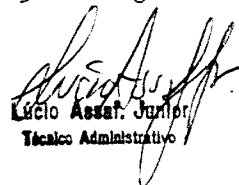
- A T E S T A D O -

ATESTO, a requerimento do interessado e de ordem do Senhor Diretor, que o Sr. **GORAN KUCHAR JEZOVSEK**, natural de Temuco - CHILE, nascido a 22 de março de 1969, filho de Borivoj Kuhar Cop e de Vlasta Jezovsek, é aluno regularmente matriculado e está cursando o 10º (décimo) semestre do Curso de Graduação em ENGENHARIA AGRONÔMICA da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo,

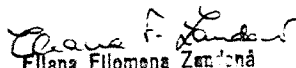
ATESTO, outrossim, que o mesmo cursou as seguintes disciplinas no semestre anterior, com as respectivas notas:

<u>disciplinas</u>	<u>sem.</u>	<u>nota</u>	<u>cred. aula</u>	<u>cred. trab.</u>	<u>res.</u>
LAG637 Plantas Extrativas	1º/90	7,5	4.0	---	AP
LCF533 Tecnologia da Celulose e Papel (res. 3045)	1º/90	9,0	3.0	1.0	AP
LES667 Administração Rural	1º/90	7,0	3.0	1.0	AP
LGN616 Melhoramento de Hortaliças	1º/90	5,3	4.0	---	AP
LHO528 Fruticultura I	1º/90	5,3	4.0	---	AP
LHO670 Controle das Plantas Daninhas	1º/90	7,4	4.0	1.0	AP
LTR557 Tecnologia de Alimentos II	1º/90	6,2	4.0	---	AP
LCF581 Silvicultura	1º/90	6,1	4.0	---	AP

Piracicaba, 15 de agosto de 1990.


 Lucio Assaf Junior
 Técnico Administrativo

V I S T O:


 Eliana Filomena Zanfoni
 Chefe da Seção de Eng. Agrônômica



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
 CAMPUS DE PIRACICABA
 ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"



SAG/552-90

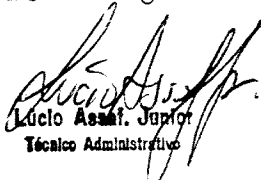
- A T E S T A D O -

ATESTO, a requerimento do interessado e de ordem do Senhor Diretor, que o Sr. **ROBERTO PEDROSO DE OLIVEIRA**, natural de Sorocaba - Estado de São Paulo, nascido a 27 de abril de 1967, filho de Walter Pedroso de Oliveira e de Bruna Pedroso de Oliveira, é aluno regularmente matriculado e está cursando o 10º (décimo) semestre do Curso de Graduação em ENGENHARIA AGRONÔMICA da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo.

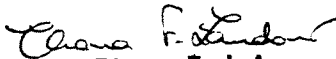
ATESTO, outrossim, que o mesmo cursou as seguintes disciplinas no semestre anterior, com as respectivas notas:

<u>disciplinas</u>	<u>sem.</u>	<u>nota</u>	<u>cred. aula</u>	<u>cred. trab.</u>	<u>cred. res.</u>
LAG637 Plantas Extrativas	1º/90	9,2	4.0	---	AP
LCF581 Silvicultura	1º/90	8,7	4.0	---	AP
LER418 Construções Rurais	1º/90	7,8	4.0	---	AP
LFT624 Doenças das Grandes Culturas	1º/90	10,0	4.0	---	AP
LH0628 Fruticultura II	1º/90	9,3	4.0	---	AP
LH0670 Controle das Plantas Daninhas	1º/90	8,7	4.0	1.0	AP
LSG623 Adubação e Nutrição de Plantas Cultivadas	1º/90	9,0	4.0	---	AP

Piracicaba, 16 de agosto de 1990.


 Lucio Assaf Junior
 Técnico Administrativo

V I S T O:


 Eliana Filomena Zandoná
 Chefe da Seção de Eng. Agrônômica

RELATÓRIO DO CURSO INTERSEMESTRAL "BMP-101 METODOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE E EXPRESSÃO GÊNICA", REALIZADO NO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DA USP

G.K. Jesovsek

1. INTRODUÇÃO

Este curso foi realizado com o objetivo de conhecer as técnicas mais utilizadas em Engenharia Genética.

2. DESENVOLVIMENTO

O programa era composto por uma série de aulas teóricas e práticas, descritas a seguir.

2.1. Aulas teóricas

a. Descrição e apresentação dos modelos utilizados em Biologia Molecular: bactérias, bacteriófagos, leveduras, células animais e vírus animais.

b. Caracterização de antígenos: tentativas de observação da vacina contra malária em vários laboratórios do mundo, descrição dos métodos de "Western" e dos testes de reação para antígenos.

c. Material genético: estrutura dos ácidos nucleicos, propriedades físicas e químicas, descrição do princípio de complementariedade e o advento das enzimas de restrição.

d. Vetores de clonagem: caracterização e descrição dos principais vetores: plasmídios (pBR322 e PUC), bacteriófagos (Fago λ), cosmídios e vírus.

e. Construção do DNA recombinante: descrição da montagem de uma biblioteca em fago e seus principais passos.

f. Sistemas hospedeiros: Caracterização e descrição, técnicas de introdução do DNA nestes.

g. Caracterização do DNA clonado: mapeamento de restrição, hibridação, PCR.

h. Sequenciamento de DNA: descrição dos principais métodos (Sanger e Mayan-Gilbert).

i. Regulação de expressão: mecanismos de regulação presentes em células eucarióticas e procarióticas.

j. Produção de proteínas pelo DNA clonado: descrição dos principais métodos de obtenção de proteínas codificadas pelo material clonado.

k. Aplicações do DNA recombinante: discussão sobre as metodologias e resultados obtidos nas áreas farmacêuticas, agrícolas e veterinárias.

2.2. Aulas práticas

a. Detecção de proteínas: montagem de um ensaio de caracterização de antígenos.

b. Cultivo de microrganismos: plaqueamento e contagem de leveduras.

c. Titulação de uma biblioteca em fago lambda GTII: contagem de placas de lise, em meios contendo os fagos clonados.

d. Transformação bacteriana: inserção de material genético em bactérias.

e. Ensaio de restrição: mapeamento de um plasmídeo utilizando as enzimas de restrição PST I, ECO RI e Bam HI.

f. Eletroforese de DNA e "Southern Blot".

g. Preparação de sondas: marcar com ^{32}P pedaços de DNA.

h. Sistemas de detecção de proteínas por atividade citológica: dois métodos foram demonstrados, o de colônias amilolíticas e o de β -galactosidase.

3. AVALIAÇÃO

Foi feita mediante a apresentação de um projeto fictício envolvendo as técnicas observadas (em anexo).

4. APRECIÇÃO

O curso foi de ótima qualidade, cumprindo seus objetivos de demonstrar as técnicas e os fundamentos da Engenharia Genética.

OPINIÃO SOBRE O PROGRAMA

Este semestre, devido a uma sobrecarga de atividades curriculares não foi possível a realização das atividades previstas para o PET. Sendo esta uma falha de cunho pessoal, não existem motivos para desmerecer o Programa e seus objetivos.

OPINIÃO SOBRE O TUTOR

O Dr. Flávio C.A. Tavares continua mantendo suas características de bom tutor, já comentadas em relatórios anteriores.

Piracicaba, 15 de agosto de 1990

Goran Kuhar Jesovsek

Universidade de São Paulo
Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Parasitologia

"Transferência de um gene de uma espécie vegetal
selvagem para uma espécie comercial."

Goran Kuhar Jezovsek

Trabalho escrito para a
avaliação da disciplina
BMP-101 Metodologia do
DNA Recombinante e Ex-
pressão Gênica.

1. Introdução.

Pesquisadores do INPA de Manaus (AM), em uma de suas expedições para coleta de espécies vegetais da Floresta Tropical encontraram uma planta muito utilizada como alimento por populações indígenas do local. Feita sua coleta para estudos, descobriu-se ter este material, um alto valor nutritivo, com destaque ao seu teor proteico. Exames mais acurados, mostraram que dentro dos amino-ácidos presentes, havia uma alta prporção de lisina e triptofano, dois dos amino-ácidos essenciais ao Homem, presentes em apenas uma proteína que aparecia em alta concentração no vegetal. Por causa destas características, decidiu-se tentar a incorporação desta proteína na alimentação deficiente em termos nutricionais, da população de baixa renda.

Por se tratar de uma espécie nativa, ambientada à Floresta Tropical, seucultivo comercial mostrou-se, através de experimentos de campo, antieconômico, além disso, poderia apresentar um problema de aceitação da população alvo, não habituada a consumir este tipo de vegetal.

Optou-se então, pela tentativa de inserção do gene que codificava esta proteína, em um vegetal de cultivo comercial e boa aceitação popular.

Estudos preliminares revelaram que a proteína codificada possuía uma seqüência de quarenta e cinco amino-ácidos, o que impossibilita a construção do gene em laboratório, devido ao seu tamanho. Outra informação adicional fornecida é a de que em uma das extremidades da proteína, existe uma cadeia de cinco triptofanos, com uma lisina terminal.

Estas informações, junto com o material vegetal (sementes e plântulas), foram fornecidos ao nosso laboratório, que incumbiu-se de tentar a transferência do gene para um vegetal comercial.

2. Material e Métodos.

Escolheu-se o método de transformação vegetal descrito por TEPFER (1982), que utiliza a bactéria Agrobacterium rhizogenes como agente de transformação e seu plasmídeo pRi como vetor. Com base nas informações de BIROT et alli (1987), escolheu-se a batata (Solanum tuberosum) como vegetal alvo.

Cepas bacterianas:

A.rhizogenes A4

E.coli HB101

Cultivar de batata:

Mantiqueira

3. Procedimentos.

a. Extração do RNA das células vegetais. Como o objetivo do trabalho é a obtenção de um produto gênico específico a ser expressado pelo vegetal hospedeiro, isto será feito por biblioteca de cDNA, para melhor individualização do gene, e retirada de possíveis introns que interferissem no processo.

b. Purificação do mRNA através de uma resina oligo dT, para retirar outros RNAs não desejados.

c. Tradução 'in vitro' para verificar se foi separado o mRNA desejado.

d. Obtenção do cDNA através da utilização da transcriptase reversa.

e. Colocação de um 'linker' (Pst I) nas extremidades dos cDNAs.

f. Ligação dos cDNAs no vetor: o vetor escolhido foi o pBR322, ocorrendo a ligação dentro do gene de resistência à Ampicilina (Amp^r), permanecendo o gene de resistência à Tetraciclina (Tet^r) como marcador. A este vetor construído demos o nome de pLQ001.

g. Transformação da HB101 com o pLQ001, via choque térmico.

h. Seleção dos transformantes em placas com Tetraciclina e outras com Tetraciclina e Ampicilina, as que apresentarem resistência apenas à tetraciclina serão as bactérias contendo o pLQ001.

i. Identificação do Dna de interesse:

i1. Isolamento dos plasmídios;

i2. Tratamento com enzima de restrição para linearizar os plasmídios (Bam HI)

i3. Eletroforese em gel de Agarose

i4. Southern blot

i5. Hibridização com sondas marcadas contendo a seqüência de codificação para cinco triptofanos e uma lisina terminal:

UGGUGGUGGUGGUGGAAA

i6. Revelação dos blots.

j. Multiplicação do vetor em cultura em meio LB à 37º C por 24 h.

k. Transferência do vetor para a A.rhizogenes e inserção do gene pesquisado no plasmídio pRi (neste caso utiliza-se um plasmídio modificado, contendo um gene marcador para Amp^r e uma região de pBR322, chamado pLQ002). Isto é feito por conjugação das bactérias que contém os plasmídios pLQ001 e pLQ002, auxiliada por uma E.coli contendo os plasmídios naturais pRK2 ou pRK3 que auxiliam no processo, permitindo a entrada do pLQ001 na A4, sem no entanto serem replicados pela A.rhizogenes. Esta técnica é conhecida como 'triparental mating'. Dentro da bactéria ocorre a formação de um cointegrado que ocorre através de um 'Crossing-over' entre as regiões homólogas de pBR322 existentes nos dois plasmídios. Como o pLQ001 não pode se replicar dentro da A4, a seleção dos recombinantes é feita plaqueando-se as bactérias em meio com Tetraciclina.

l. Inoculação da Agrobacterium: feita através de corte com lâmina infectada pela bactéria, em nervuras de discos foliares de batata. Estes discos são incubados em meio MS sólido para cultura de tecidos vegetais até o aparecimento de raízes (resultantes da transformação). Estas raízes são transferidas para placas contendo MS com Cefataxima para matar as bactérias e aumentar o volume das raízes.

m. Regeneração de plantas: coloca-se uma porção de raízes em meio MS sólido contendo hormônios vegetais apropriados (2,4-D e NAA), transferindo o material para vidros com MS sólido após o aparecimento de estruturas foliares. Seguindo o crescimento vegetal, transferir para vidros maiores, até que as plantas tenham aproximadamente 10 cm de altura, que é o momento de transferi-las para canteiros previamente tratados (pode-se como prática intermediária, transferi-las para vasos contendo terra estéril e solução nutriente e colocá-los em câmara úmida).

n. Teste dos vegetais obtidos: através de eletroforese de proteínas, pode-se identificar os vegetais que sintetizam a proteína desejada.

o. Teste de progênies: obtem-se sementes (ou no caso tubérculos para reprodução), e verifica-se se o gene que codifica a proteína se expressa nos descendentes daquelas plantas transgênicas. Caso a resposta seja positiva, encaminha-se o material para instituições de melhoramento para características agronômicas e produtores de sementes para que ocorra a difusão da nova variedade com alto teor de proteína.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"

"VISITA AOS ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA"

Roberto Pedroso de Oliveira

PIRACICABA
Estado de São Paulo-Brasil
agosto - 1990

INTRODUÇÃO

No panorama agronômico mundial, alguns países ocupam posição de destaque, por sua tecnologia e produção. Um desses países é os Estados Unidos da América, cuja agricultura envolve quantias que alcançam a casa de um trilhão de dólares e emprega cerca de 21 milhões de trabalhadores, o que equivale a 18,5% da mão-de-obra americana.

Mesmo contando com apenas 0,3% da mão-de-obra agrícola mundial, a produção dos EUA é muito representativa no contexto geral (53% de soja, 40% de milho, 31% de sorgo).

Com a agricultura do país voltada à exportação (um quarto de toda a produção) observou-se, em 1987, um saldo positivo de 7,5 bilhões de dólares na balança comercial agrícola. Além disso, a atividade agrícola tornou possível a criação de negócios adicionais da ordem de 42 bilhões de dólares.

O grande desenvolvimento alcançado pela agricultura norte-americana deve-se muito ao árduo trabalho de pesquisa desenvolvido em universidades, centros de pesquisa governamentais e instituições privadas. Esses esforços conjugados vêm proporcionando aumento de produtividade e melhoria das condições de trabalho.

Desta forma, a viagem aos Estados Unidos, visitando o Ministério da Agricultura (USDA), universidades, fazen

das-modelo e campos de pesquisa da indústria privada, foi importante para aumentar os nossos conhecimentos na área de biotecnologia e agronômica de um modo geral.

A viagem se realizou do dia 22 de junho ao dia 10 de agosto. O seu roteiro segue em anexo. Além de colaborar no enriquecimento de conhecimentos da área agronômica, a viagem propiciou enormes experiências em todas as atividades que ela envolveu. Requereu três meses de preparação, durante os quais se aprendeu muito sobre uma viagem para o exterior. Como a chegada da viagem ficou muito próxima à data de entrega desse relatório, será feito a seguir uma citação daquilo que se viu. Pretendemos fazer nesse próximo semestre muitas reuniões para se discutir os aspectos da viagem para que junto ao orientador possamos avaliar os resultados por ela propiciados, os quais serão melhor relacionados em relatório posterior.

A NECESSIDADE DE NOVAS TÉCNICAS

Desde que o homem começou a cultivar a terra, ele busca meios para aumentar a produtividade e diminuir os custos. Geadas, insetos, doenças, seca e outras formas de "stress" custam bilhões de dólares por ano em termos de produção. A única alternativa de resolver o problema é através de pesquisas. A biologia molecular e a engenharia genética parecem trazer grandes soluções. Por isso, as empresas privadas e universidades americanas estão investindo pesado nesses setores, como pôde ser observado pessoalmente na viagem. Estas novas técnicas podem representar uma segunda revolução verde na agricultura.

A população mundial continua a crescer e torna-se necessário o aumento da produção mundial e produção de alimentos de maior qualidade e valor nutritivo. Para que isso ocorra, todo país deverá investir em pesquisa, pois somente isto poderá buscar as soluções para os riscos de falta de alimentos.

A TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE OU ENGENHARIA GENÉTICA

A possibilidade de mover um gene de um organismo para outro abriu novos campos para a pesquisa. Três grandes descobertas permitiram aos cientistas o avanço no sentido de encontrar a chave para descobrir os segredos da célula: trabalhos de WATSON & CRICK em 1950, sobre a molécula de DNA; trabalhos que culminaram com a descoberta de plasmídeos e, posteriormente, a descoberta de enzimas que naturalmente cortam o DNA em determinados pontos.

Atualmente, a maioria dos trabalhos de transferência de genes em plantas se baseia na utilização do Agrobacterium tumefaciens usando-o como intermediário na transferência de genes. Podemos observar muitos centros de pesquisa realizando trabalhos com essa bactéria.

A CULTURA DE TECIDOS

Esta técnica é muito importante para o melhoramento. Toda célula da planta é totipotente, ou seja, é capaz de se desdiferenciar e dar origem a uma nova planta. Algumas plantas como o tomate, tabaco e petúnia são fáceis de regenerar, outras são mais difíceis e, por isso, deve-se realizar pesquisas visando a descoberta de meios e balanço hormonal adequado à regeneração de explantes dessas plantas. A cultura de tecidos praticamente é utilizada em todo trabalho de biotecnologia vegetal e de seu sucesso estão dependentes as demais técnicas.

APLICAÇÕES EM PLANTAS

Pudemos observar uma série de trabalhos nos laboratórios americanos. Como o material que recebemos em cada universidade e empresa que visitamos foram remetidos pelo correio e ainda não chegaram, faremos nesse relatório de uma forma superficial essa exposição.

Muitos trabalhos, nos EUA, estão sendo realizados em se tratando da resistência de insetos, através da transferência para a planta de genes que permitam que esta produza o seu próprio "inseticida". Nesse aspecto alguns resultados foram obtidos em tomate e tabaco, através do gene chamado B.t. transferido à planta pelo sistema Agrobacterium.

Trabalhos relativos à transferência de genes visando a tolerância a herbicidas e resistência a vírus também

vêm sendo realizados.

Outras aplicações dessas novas tecnologias presentes nas universidades americanas têm visado a: obtenção de sementes com maior valor nutricional; plantas resistentes ao frio ou calor; trigo com melhores propriedades industriais; plantas resistentes à seca e/ou salinidade; plantas tolerantes ao excesso de água; plantas produtoras de óleos saturados; plantas imunes a doenças; alimentos com melhor digestibilidade; plantas produtoras de substâncias químicas que possam ser utilizadas na indústria farmacêutica; desenvolvimento de microrganismos para combater doenças e insetos; estudos para promover incremento na fixação de nitrogênio por plantas.

A VIAGEM

O aprendizado adquirido numa viagem desse porte não é possível de ser mensurado. Além do conhecimento técnico, aprendemos muito em termos de cultura e, principalmente, em termos de organização e educação nos EUA.

Certamente eles são um país rico, certamente seus pesquisadores têm gigantescos recursos, mas o que se destaca é que eles trabalham realmente a sério e por isso, ou melhor, por tudo isso, continuam a ser os pioneiros em muitas áreas. A viagem também permitiu, através das visitas às universidades, o contato direto com estudantes de pós-graduação americanos, do Brasil e de outras partes, os quais procuraram transmitir suas experiências. Também através da conversa com professores e se

tores departamentais que cuidam de estudantes de pós-graduação estrangeiros, pudemos coletar material e informações que nos possibilitassem comparar o mestrado das universidades americanas com o nosso.

Após a chegada do material que remeti pelo correio, realizarei discussões com o tutor do programa PET para solidificar o que vi naquele país, o me dará melhores condições de decidir onde farei minha pós-graduação. Todo esse material contendo informações sobre os cursos de pós-graduação nas universidades será compartilhado com outros membros do PET e de mais alunos da escola, que estejam interessados, através de reuniões a serem realizadas no próximo semestre.

Achamos por bem, como o material das universidades ainda não está em nossas mãos e como achamos melhor primeiro discutir com o orientador o que vimos, para evitar possíveis erros de interpretação, deixar o relatório de cada universidade para o próximo relatório semestral, pois em nossa opinião, assim o trabalho será melhor realizado.

Apresentarei, no entanto, uma pequena mostra do que vimos nos EUA, que se refere à visita a uma das maiores empresas que trabalham com biotecnologia no mundo.

RELATÓRIO DE VISITA À "MONSANTO LIFE SCIENCES RESEARCH CENTER"

Monsanto Life Sciences Research Center é um dos maiores e mais sofisticados centros de pesquisa do mundo, voltado para estudos visando a compreensão da química e biologia que regem a vida. Este centro consiste num dos 23 centros de

pesquisa da Monsanto no mundo.

Neste centro, mais de 1000 cientistas e pessoal de suporte trabalham estudando os fatores químicos e biológicos que controlam o crescimento, desenvolvimento e saúde de plantas e animais. Eles também estão procurando novos caminhos para o tratamento das doenças humanas.

Não só a Monsanto, mas também outras empresas visitadas nos EUA estão investindo milhões de dólares, visando obter novos produtos agrícolas, produtos para nutrição animal e produtos farmacêuticos para uso humano.

O centro de pesquisa da Monsanto, visitado, se situa em St. Louis no Estado de Missouri. Está equipado com laboratórios modernos, computadores e sistema avançado de comunicações visando manter seus pesquisadores em contato com os resultados de pesquisa obtidos em todo o mundo.

As áreas de pesquisa dessa empresa são: a agricultura, saúde e nutrição animal e saúde humana.

Para máximos resultados, os laboratórios contam com câmaras de crescimento e casas de vegetação conectadas com terminais de computação, visando melhor controle da pesquisa.

Ao todo são 123 câmaras de crescimento, as quais podem duplicar qualquer clima do mundo. Nessas câmaras são feitos estudos sobre novos produtos químicos, principalmente, herbicidas visando o aumento da produtividade e controle de plantas daninhas. Cerca de 24 casas de vegetação se situam adjacentes a este complexo de câmaras, visando permitir a transferência das plantas para sistema com luz solar natural.

Máquinas são usadas para enchimento dos saquinhos com solo e, para o preparo de concentrações delicadas, utilizam-se computadores.

A pesquisa nesse laboratório pode ser comparada a uma verdadeira indústria, devido a extrema organização e ao trabalho conjunto dos cientistas em busca do produto final.

Em palestra realizada, disseram-nos que a pesquisa agrícola para aumentar a produtividade, para controlar plantas daninhas ou insetos e para reduzir as doenças é conduzida também em laboratórios e fazendas nos EUA, Bélgica, Brasil e Japão.

Além do citado, existem mais de 250 laboratórios espalhados nesse centro de pesquisa visitado, onde os cientistas estudam os efeitos de substâncias químicas no crescimento e saúde de animais, visando obtenção de novos suplementos que levem o incremento na produção animal. Eles também estudam proteínas que podem ser úteis no tratamento de doenças humanas. Também são realizados estudos sobre biotecnologia em áreas relativas a genética de plantas, fisiologia, engenharia genética e fermentação.

Os investimentos nesse centro são da ordem de 150 milhões de dólares.

Hoje a Monsanto produz mais de mil produtos. Os principais são o Lasso e o Roundup, que são herbicidas conhecidos em todo o mundo.

RESULTADOS DA VISITA

A visita mostrou-nos a preocupação da empresa privada americana com o seu futuro. Investimentos da ordem de milhões de dólares jamais seriam realizados se não tivessem possível retorno financeiro. Desta forma, investir em biotecnologia é tido como principal caminho para avanço da ciência e de produtos úteis ao homem.

A visita também serviu para ilustrar as diferenças e semelhanças entre a universidade e a empresa privada americana. Ambos organizados, porém, com objetivos diferentes. A empresa, visando a sobrevivência e a ampliação; a universidade, investindo em todas as áreas, visando manter vivas todas as ciências e gerar conhecimentos que possam ser úteis à população e à própria empresa privada. Ambos, no entanto, colaborando direta ou indiretamente para o desenvolvimento dos EUA.

OPINIÃO SOBRE O PROGRAMA

Em minha opinião, o programa é válido. Nas reuniões e conversas particulares temos constantemente discutido formas para aprimorar o programa em nosso departamento. De minha parte, acredito que muito tenho aprendido desde que o programa começou. Talvez não tenha chegado a ser um profissional diferenciado, como era o objetivo do programa, mas acho que me tornei pelo menos um aluno diferenciado. O programa também está sendo útil para ajudar-me a definir meu futuro profissional.

OPINIÃO SOBRE O TUTOR

O tutor em questão tem cumprido seu papel. É grande incentivador de uma série de atividades a serem realizadas e destaca-se por estar sempre preocupado com nosso futuro profissional. Neste aspecto, tem prestado ajuda essencial junto ao programa, procurando nos orientar.

Piracicaba, 15 de agosto de 1990

Roberto Pedroso de Oliveira

PROGRAMA DE VIAGEM - 1990

- Junho 22 - Viagem São Paulo-Miami
24 - Visita à Universidade da Flórida - Gainesville
29 - Visita à Universidade Estadual de Louisiana -
Baton Rouge
- Julho 03 - Visita à Universidade do Texas - Tech-Lubbock
06 - Visita à Fazenda-modelo do Estado do Texas
11 - Visita à Universidade de Nebraska - Lincoln
13 - Visita a Monsanto Co. - St. Louis
16 - Visita a Dow Co. - Indianápolis
18 - Visita a U.S.D.A - Washington
22 - Visita à Universidade Estadual da Carolina do
Norte - Raleigh
30 - Visita à Universidade da Califórnia -Berkeley
- Agosto 05 - Visita à Universidade da Califórnia - Los Angeles
08 - Visita à Universidade da Califórnia - San Diego
10 - Volta ao Brasil