

**UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL – UNISC**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA E FARMÁCIA**

**DISCIPLINA DE BIOTECNOLOGIA**

**BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA**

**Haywood Dail Laughinghouse IV**

**Juliana de Souza Santos**

**Lucy Robyn Glenday**

**Solange Maria Osaida**

**Wilson Junior Weschenfelder**

**Profª: Maria Viviane Gomes Muller**

**Santa Cruz do Sul, junho de 2005.**

## **1 BIOTECNOLOGIA E AGROINDÚSTRIA**

A biotecnologia tem suma importância no aumento da produtividade agrícola mundial. As oportunidades tecnológicas abertas pela biotecnologia vão desde a aceleração do processo de obtenção de novas variedades até a criação de meios para a melhor exploração da biodiversidade.

Deve-se observar que as oportunidades abertas pelas ferramentas genéricas de biotecnologia e suas aplicações na biotecnologia não estão limitadas ao desenvolvimento dos segmentos do setor alimentar voltados para os estratos mais elevados de renda. Pesquisas, quase de forma simultânea, fornecem elementos para que a agroindústria processadora, que é a base da exportação do setor no Brasil, mantenha ou ganhe novos patamares de produtividade.

O sistema de inovação na agropecuária brasileira detém conhecimento, gera tecnologia e transforma essa tecnologia em inovação. Talvez seja um dos únicos sistemas setoriais de inovação do país em que haja amplo domínio e forte integração da pesquisa à inovação, do laboratório ao mercado.

Com as mudanças em curso nos padrões de pesquisa biológica - fruto da biologia molecular, de avanços na biologia celular e da interação com outras áreas do conhecimento -, o Brasil está diante de um desafio um pouco diferente do de outras áreas e setores econômicos: partimos de uma base de excelência que não é apenas científica e tecnológica, mas produtiva e comercial. Temos um sistema agropecuário de inovação que, embora com lacunas a preencher, é razoavelmente bem estruturado. Isto nos dá certa vantagem para incorporar e desenvolver o que é novo, sem precisar sair do zero, nem esperar pela amortização dos investimentos internacionais nas tecnologias mais importantes. As técnicas de base biológica, dentre as quais estão tecnologias muito além dos transgênicos, já hoje são fundamentais na definição de quem continuará a ser competitivo nos mercados interno e externo.

Com um padrão um pouco diferencial do internacional, em que as aplicações biotecnológicas no campo farmacêutico superam em muito as voltadas para a

agroindústria e indústria de alimentos, no Brasil uma parte significativa das atividades em biotecnologia refere-se a insumos para a agricultura (inoculantes, bioinseticidas de alimentos) e, mesmo, para aumentar o grau de conhecimento sobre as características das variedades cultivadas no país, visando melhor eficiência no combate a doenças e aumento da produtividade.

Um exemplo notável das possibilidades abertas pela biotecnologia é dado pela obtenção de plantas transgênicas com impactos favoráveis sobre o ambiente, via a introdução de certos precursores na batata (p. ex.) que inibem o crescimento de populações de insetos sem que estas sejam aniquiladas. Configura-se, pois, um quadro de grande desenvolvimento potencial, limitado por problemas institucionais, as indefinições no desenho do sistema de patentes, com a aprovação recente da nova Lei também recentemente aprovado, e pelos efeitos da crise atual da economia, que perdura.

Cerca de 25% das empresas identificadas pela Fundação Biominas, atuando em biotecnologia em 2001, estavam diretamente voltadas ao agronegócio, contra 24% diretamente voltadas para a saúde humana. O interessante é que começa a crescer o número de empresas que prestam serviços tecnológicos a empresas de biotecnologia do setor de agronegócios, o que revela um efeito multiplicador ao longo da cadeia até as empresas de biotecnologia.

Ao mesmo tempo em que as ações em rede começam a ser empreendidas, a pesquisa biotecnológica iniciada na década de 70 e 80 apresenta resultados e, com eles, a polêmica das sementes transgênicas, inicialmente de soja e de milho e mais recentemente de algodão.

A biotecnologia abre a possibilidade de melhoramento genético da qualidade e variedade de espécies, tal como exigido pela indústria processadora e pela tendência de segmentação da indústria de alimentos. Também permite o desenvolvimento de kits-diagnóstico para a identificação de doenças e para a escolha do melhor método de propagação de mudas para torná-las imunes a doenças, dois aspectos cruciais para a competitividade brasileira no setor de sucros.

Analisando especificamente as tecnologias aplicadas à agroindústria, conclui-se que a biotecnologia aplicada à agricultura poderia mudar essencialmente a produção agrícola no mundo. Isso é assim porque nestes primeiros anos do século XXI, tem se produzido avanços impensáveis em matéria de inovação biotecnológica.

Na biotecnologia é fundamental estabelecer redes de pesquisa que englobem empresas e centros de pesquisa de diferentes naturezas, que estimulem a regularidade nas associações e favoreçam formas variadas de cooperação. Uma das iniciativas pioneiras neste sentido é a rede montada pela Copersúcar para

mapeamento genético da cana-de-açúcar, que envolve empresas e universidades brasileiras e estrangeiras.

O Brasil montou uma Comissão Nacional de Biossegurança (CNTBio), cujo papel básico é estabelecer diretrizes para pesquisa, experimentação e liberação no ambiente de cultivares transgênicos. Seu parecer sobre a soja transgênica foi favorável, mas várias questões relacionadas ao comportamento do consumidor realimenta o debate, principalmente sobre a conveniência de se colocarem rótulos nos produtos obtidos com cultivares transgênicos.

Os países industrializados que mediante a aplicação de transferência de biotecnologia aplicada à agricultura têm conseguido avanços com êxito e crescimento da indústria agroalimentícia, o tem feito através de uma equilibrada relação entre os centros de pesquisa públicos e grupos de empresas que têm investido em P&D, atendendo fundamentalmente a reservar seus direitos de patentes como elemento fundamental na hora de ganhar mercados e determinar preços.

Nos países do Mercosul, produtores extensivos de alimentos, deveriam determinar como prioridade de suas políticas conjuntas, uma definição em matéria de produção de alimentos transgênicos e uma política coordenada em matéria de patentes biotecnológicas adequada às necessidades de seus mercados regionais.

A realidade dos países de menor desenvolvimento, de economias de base agrícola, requer que o paradigma da indústria biotecnológica contemple objetivos de base ética, que permitam obter reservas alimentícias ao alcance dos países com altos índices de déficit alimentar.

Num mundo no qual o conhecimento é o fator crítico, o mínimo que se espera é não abdicar de trajetórias virtuosas, como tem sido a da pesquisa agrícola brasileira. Controle-se sim os efeitos das novas tecnologias sobre a saúde e o ambiente, mas não se perca o controle sobre os parâmetros que determinam o futuro.

## **2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO-MOLECULAR APLICADO NA AGROINDÚSTRIA**

As exigências crescentes por segurança alimentar têm estimulado o desenvolvimento e utilização de metodologias de análises rápidas e precisas de alimentos em todas as etapas da cadeia produtiva, tanto no processo de industrialização quanto no de comercialização. Como consequência, as técnicas de análise de ácidos nucleicos (DNA e RNA), pelas características intrínsecas de precisão e rapidez, têm sido crescentemente utilizadas.

As técnicas de biologia molecular se aplicam de forma especial às agroindústrias de carnes em diferentes etapas:

- 1) na vigilância sanitária, para o diagnóstico e monitoramento dos principais patógenos animais nos plantéis em produção e de patógenos potencialmente patogênicos para homem;
- 2) no controle de qualidade de insumos, como rações e vacinas, ministrados aos animais;
- 3) no aprimoramento do gerenciamento da qualidade, como ferramenta auxiliar na "Análise de Perigo em Pontos Críticos de Controle" (APPCC);
- 4) na análise de produtos finais, para verificar a presença de microrganismos contaminantes.

As técnicas de diagnóstico genético-molecular também têm uso nos laboratórios das agroindústrias de produtos vegetais com duas finalidades principais na verificação da presença de organismos geneticamente modificados (OGMs) em lotes de grãos crus recebidos para processamento e na determinação da presença de microrganismos contaminantes nos produtos finais.

O comércio de produtos agroindustriais, principalmente internacional, também tem sido beneficiado com as técnicas de detecção genético-molecular. As técnicas de PCR qualitativa e quantitativa são, por exemplo, recomendadas para análise de presença de OGMs em lotes de grãos crus ou alimentos processados, sendo amplamente utilizadas no controle do comércio de soja, milho, grãos em geral e

produtos derivados. Outras aplicações referem-se à determinação de presença de microrganismos contaminantes específicos (*Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, etc.), análise de presença de proteína de determinada espécie animal e determinação da composição do produto (prova de origem precisa para cada espécie da planta e animal, junto com suas proporções quantitativas na composição de gêneros alimentícios processados).

## **2.1 Microrganismos contaminantes em alimentos**

O desenvolvimento de tecnologias de diagnóstico molecular baseadas na análise de ácidos nucleicos (DNA e RNA) permitiu uma nova abordagem na pesquisa laboratorial de microrganismos contaminantes de alimentos, proporcionando vantagens significativas, como detecção direta do patógeno, sensibilidade, especificidade e, principalmente, rapidez na análise.

Inicialmente foram utilizados testes de hibridização com o uso de sondas de ácidos nucleicos marcadas com radioisótopos ou componentes não radioativos. A possibilidade de regular a especificidade do ensaio com a sequência da sonda e controle preciso das condições de hibridização incentivou os pesquisadores a investigarem e desenvolverem uma grande variedade de sondas aplicáveis às diferentes demandas de diagnóstico microbiológico.

O surgimento das técnicas de amplificação de ácidos nucleicos "in vitro" abriu novas possibilidades para o desenvolvimento de ensaios com maior sensibilidade. Em condições ótimas, técnicas como a Reação em Cadeia da Polimerase ("PCR - Polymerase Chain Reaction") são capazes de detectar quantidades ínfimas do organismo alvo.

Os sistemas de PCR com detecção em tempo real (monitorização direta no tubo durante a amplificação) possibilitaram o desenvolvimento de uma nova geração de testes para detecção e quantificação de microrganismos em alimentos. A técnica mais utilizada para este fim é a TaqMan PCR, que se baseia no princípio de digestão de sonda fluorogênica interna ao fragmento amplificado durante a etapa de amplificação.

Além da PCR, outras técnicas de amplificação também são descritas para a detecção de microrganismos em alimentos, tais como a reação em cadeia da ligase (LCR, do inglês "ligase chain reaction") e amplificação baseada na transcrição (NASBA, do inglês "nucleic acid sequence-based amplification")

Com a aprovação de legislações específicas para adequação de agroindústrias a programas de APPCC, que utilizam contagens de alguns microrganismos

indicadores (*Salmonella*, *Escherichia coli*) de contaminação microbiana, houve um aumento na demanda de testes rápidos para a detecção deste microrganismo “in loco”.

## **2.2 Organismos geneticamente modificados**

Em meados dos anos 90, começaram a ser comercializados alimentos obtidos de organismos geneticamente modificados (OGMs) derivados principalmente de variedades de soja resistentes ao herbicida Roundup (Roundup-Ready) e de milho (denominadas Bt 176) resistentes a uma importante praga das lavouras - a lagarta do cartucho. Em um primeiro momento, a resistência de muitos consumidores a estes alimentos, principalmente na Europa, resultou em restrições ao consumo e introdução de barreiras para comercialização de produtos derivados de OGMs. Mais recentemente, com o estabelecimento de legislação específica, foi imposta a rotulagem dos alimentos geneticamente modificados. Os rótulos devem explicitar o percentual da composição do alimento referente aos OGMs, que pode variar conforme a legislação do país ou bloco de países.

Apesar da existência de outras metodologias para análise de produtos geneticamente modificados (químicas, imunológicas), as técnicas de detecção de ácidos nucleicos são atualmente as mais utilizadas para avaliação de presença de OGMs em grãos crus ou alimentos processados. Como todo organismo que tenha sofrido alteração do seu genoma, a prova irrefutável da modificação consiste na identificação da principal molécula alterada, ou seja, o DNA. Na maior parte dos países produtores e consumidores, a PCR é considerada a técnica de referência nas transações comerciais e rotulagem de alimentos.

As técnicas de PCR para análise de OGMs também podem ser classificadas em qualitativas e quantitativas. No primeiro caso, a análise objetiva apenas a determinação da presença ou ausência de OGMs em determinado alimento ou lote de grãos, não interessando a quantidade e/ou percentual destes. O procedimento mais amplamente descrito e utilizado envolve uma etapa de amplificação por PCR e a análise dos produtos amplificados por eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida.

As análises quantitativas visam à determinação do percentual e/ou quantidade total de um tipo de OGM específico ou grupos de OGMs. As técnicas de PCR normalmente utilizadas em ensaios quantitativos são: PCR competitivo e PCR em tempo real. A técnica de PCR competitivo é baseada na comparação da quantidade final de DNA amplificado de dois alvos: (1) a sequência de interesse a ser quantificada e (2) o competidor (DNA artificial adicionado em quantidade conhecida antes da amplificação e que é co-amplificado no mesmo tubo de reação).

Atualmente, os testes de quantificação na maioria dos laboratórios de rotina são realizados pelas técnicas de PCR em tempo real, em que estão incluídos os procedimentos que analisam a quantidade de produto sintetizado durante a PCR pela medida de fluorescência diretamente no tubo de reação (Taqman PCR, SYBR green, etc.).

### **2.3 Composição de alimentos de origem animal e rações**

A possibilidade de transmissão da doença da vaca louca (encefalopatia espongiforme bovina) pelo consumo de carne bovina contaminada e a ocorrência de fraudes com determinados gêneros alimentícios elaborados resultaram na exigência do consumidor por informações detalhadas dos materiais crus utilizados na produção, das diferentes etapas do processo de elaboração e da formulação final dos alimentos cárneos. As tecnologias baseadas na análise de DNA podem auxiliar na análise de composição de alimentos e rações animais, visando tanto ao acompanhamento do processo de produção (auxiliando em programas de rastreabilidade do alimento) como na autenticação do produto final.

Os testes de PCR atuais utilizam, em geral, o genoma mitocondrial das diferentes espécies animais como alvo. As vantagens de utilizar estas regiões consistem na abundância de cópias genéticas por célula (comparativamente ao genoma nuclear que é cópia única), na ocorrência de regiões polimórficas entre espécies animais (utilizadas na diferenciação de espécies) e na origem maternal destes genomas (não ocorre heterozigosidade, simplificando a análise). Além disso, sequências de DNA mitocondrial das diferentes espécies animais já estão disponibilizadas na literatura científica, pois são regiões de eleição para a realização de estudos evolutivos.

Os protocolos de detecção molecular já estão sendo demandados por agroindústrias de diferentes setores. Nas agroindústrias de carnes, por exemplo, uma das principais aplicações é a análise da presença de material de origem animal (farinhas de sangue, ossos etc.) na formulação de rações. A utilização destas fontes de proteína animal foi proibida em muitos países, devido à preocupação com a disseminação da doença da vaca louca. Outras aplicações incluem rastreamento da origem do material recebido na indústria (aplica-se principalmente para suínos e bovinos, em que a qualidade da carne será influenciada conforme a raça do animal) e certificação do alimento elaborado a ser comercializado. Na área de laticínios e derivados, amostras de queijo de diferentes origens (bovina, bubalina, ovina, caprina ou misturas) têm sido autenticadas pela análise de DNA.

Outra área de aplicação é na análise de alimentos derivados de peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos. Nestes casos, a declaração

correta da espécie animal é de grande importância para evitar a ocorrência de fraudes e garantir a qualidade do produto. No caso do atum, por exemplo, a legislação norte-americana e europeia permite que apenas um pequeno número de espécies de peixes pode ser embalado em latas e declarado como "atum". Até recentemente, a falta de técnica efetiva para controle facilitava a comercialização de outras espécies animais (como por exemplo o bonito - *Sarda sarda*) por "atum". Nesta área, tecnologias de DNA também têm sido desenvolvidas para certificação de caviar.

Futuros estudos permitirão o desenvolvimento de tecnologias de análise de gêneros alimentícios por DNA mais refinados que possibilitem informações precisas de raças ou até mesmo de origem geográfica das amostras. Este grau de sofisticação será necessário para a denominação de alimentos regionais, tais como queijos, presuntos, patês etc.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

LUNGE, V. R.; IKUTA, N.; FONSECA, A. S. K. Diagnóstico genético-molecular aplicado na agroindústria. In: *Diagnóstico Genético-molecular*. MARQUES, Edmundo (Org.). Editora da Ulbra: Canoas. P. 219-236. 372 p.

<http://www.mre.gov.br/cdbrasil/itamaraty/web/port/economia/agroind/biotec/apresent.htm>

[http://www.mre.gov.br/portugues/politica\\_externa/temas\\_agenda/ciencia\\_tecnologia/bio\\_agroindustria.asp](http://www.mre.gov.br/portugues/politica_externa/temas_agenda/ciencia_tecnologia/bio_agroindustria.asp)