

BIOTECNOLOGIA APLICADA NO NORDESTE BRASILEIRO: REFLEXÕES SOBRE AS HORTALIÇAS

Miklós Fári PhD

Coordenador Internacional do Agricultural Biotechnology Center/BETCEN - UNESCO, Hungria e Consultor,
EMBRAPA/CODEVASF/AGROINVEST, Laboratório de Biotecnologia,
Embrapa Semi-Árido, BR 428, km 152, Zona Rural, C.P. 23, CEP 56300-000 - Petrolina, PE

1. Introdução

Através das suas metodologias sofisticadas, a biotecnologia vegetal vem atualmente conquistando novas fronteiras metodológicas na maioria dos países desenvolvidos, e seus primeiros produtos estão atingindo o mercado em todo o planeta (Gasser & Fraley, 1992). Como um sintoma geral, pode-se observar uma perplexidade de orientação nos países em desenvolvimento cuja capacidade científica não é suficiente para concorrer com o primeiro mundo. A questão geral é que a biotecnologia será uma arma nova em mão dos povos mais ricos para continuar a exploração dos povos mais pobres ou, ao contrário, através da mobilização de instrumentos biológicos mais poderosos, a Humanidade terá mais uma ferramenta efetiva para superar o desenvolvimento desequilibrado do mundo (Fári & Andrásfalvy, 1995). A resposta pode ser apenas positiva, pois estima-se que a população do planeta Terra atingirá a cifra de 8 bilhões de pessoas no ano 2030, e destes mais de 7 bilhões estarão vivendo em países em desenvolvimento (Fontes & Sampaio, 1997).

A respeito das políticas científicas de desenvolvimento biotecnológico, todas as regiões do planeta têm suas características especiais.

Este estudo tem como objetivo principal retratar os problemas especiais da biotecnologia aplicada a hortaliças no Nordeste brasileiro. No Nordeste em geral, as atividades de Pesquisa e Desenvolvimento (P & D) da biotecnologia vegetal ainda não podem competir com as regiões mais desenvolvidas do país e com outras partes do mundo. Entretanto, não podemos excluir a aplicação das metodologias modernas já disponíveis, pois cada dia de atraso aumenta a distância entre nossa região e as concorrentes. Para atingir uma posição desejada na área da biotecnologia de hortaliças, a região Nordeste enfrenta obstáculos de caráter científico e administrativo.

2. 1898: Nascimento de uma teoria em gotas de meio de cultura, que abriu um novo caminho diante da biologia moderna

O papel dos cientistas é lutar contra um mundo desconhecido das leis da Natureza. Foi assim também com a biotecnologia vegetal, cujos primeiros obstáculos foram superados a partir do final do século passado naquelas regiões do mundo, onde a organização da vida científica era bastante elevada.

Há exatamente 100 anos foi realizada em Graz, na Áustria, pela primeira vez na história científica, a investigação de cultura *in vitro* de células isoladas por um botânico húngaro-austriaco - Gottlieb Haberlandt. Era apenas um passo, mas um dos passos mais importantes da biotecnologia até a nossa época. Em 1902, ele publicou sua idéia sobre o princípio da "Teoria de Totipotência", que profeticamente postulou que os seres vivos têm capacidade de regenerar seus corpos inteiros a partir de células únicas (Haberlandt, 1902). Nem ele, nem os demais discípulos cientistas da sua época não calcularam, que suas tentativas abririam novo horizonte biológico para a Humanidade, o que atualmente é aplicado na biotecnologia. Atualmente, milhares de cientistas e milhares de laboratórios do mundo inteiro continuam neste caminho, buscando os segredos escondidos e os conhecimentos novos da Natureza.

A fim de aumentar a competitividade e produtividade da olericultura no Nordeste brasileiro, certamente não é necessário aparecer novos Haberlandts, embora, seja necessário se respeitar e adotar os resultados obtidos pelos pioneiros do referido setor. Como será realizada esta adequação durante os próximos anos, será uma das questões de maior destaque para nossa região.

3. 1998: O aparecimento da biotecnologia aplicada a hortaliças no Nordeste brasileiro abrirá novos paradigmas e desenvolvimento competitivo na região

Desenvolvimento científico desequilibrado: caso da perplexidade nordestina

Entre as maiores regiões econômicas do Brasil e da América Latina, no Nordeste brasileiro há uma das melhores condições ecológicas para produção e exportação, através de uma agricultura irrigada intensa (Queiróz, 1998). Apesar de muitos esforços administrativos, entretanto, as condições sócio-econômicas ainda não estão disponíveis em suficiente nível para a exploração deste potencial. O Nordeste brasileiro compreende uma área de 1.662.947 km² dos quais cerca de 912.218 km² estão na zona semi-árida. Esta zona possui cerca de 1.100 municípios e uma população de 27 milhões de habitantes (Martin & Wong, 1994), com grande diversidade de solos, climas, vegetação e sistemas de produção em uso, compreendendo 110 unidades geoambientais (Silva et al., 1993). No setor agropecuário há 30 instituições de P & D e universidades (Cunha, 1998).

Na área de melhoramento genético de hortaliças, atualmente no Nordeste atuam oito especialistas (Queiróz, 1998), cuja principal tarefa está ligada às metodologias de seleção tradicional. Além disso, há nesta região dois grandes centros especializados em melhoramento genético de hortaliças, cujas condições físicas, em breve espaço de tempo, serão apropriadas para a adaptação das metodologias mais avançadas, aplicadas à biotecnologia vegetal. Conhecemos, também, alguns departamentos universitários, onde foram iniciadas pesquisas básicas e aplicadas além dos cursos de mestrado e doutorado sobre plantas hortaliças (UFPE, UFAL, etc.). Apesar destes resultados importantes, no entanto, acreditamos que o futuro da intensificação do desenvolvimento biotecnológico da região será coligado às relações técnico-administrativas estabelecidas com os principais centros nacionais, como por exemplo, com o CENARGEN, o CNPH e outros. É natural que, a partir da primeira década do próximo milênio, as metodologias biotecnológicas mais avançadas tenham armas comuns e iguais ao cruzamento sexual e à seleção tradicional, como, por exemplo, a transformação genética, a engenharia genética e o mapeamento. Ressaltamos, também, que esta evolução estará em sintonia com as metodologias tradicionais, em uma convivência apropriada com o melhoramento clássico e com os Bancos Ativos de Germoplasma (BAG), etc. Neste ponto de vista, o Nordeste não está ainda competitivo com o desafio nacional e, principalmente, com o mercado internacional. Calcula-se que, desta forma, em médio espaço de tempo, a região será incapaz de adequar as suas prioridades excepcionais na área de hortaliças.

O que já é realidade para o Primeiro Mundo, não é apenas sonho para nossa região

Como a eletrônica e a computação, a biotecnologia vegetal é inquestionavelmente uma disciplina das últimas duas décadas do século XX, isto é, um dos ramos biológicos da tecnocracia humana. Sabe-se que as metodologias biotecnológicas disponíveis em hortaliças são processos relativamente simples em condições apropriadas. Nossa tarefa é criar uma estrutura de P&D mais adequada, em conjunto com uma juventude científica. Toma-se necessário elevar o nível de conhecimento de língua estrangeira, acelerar a rapidez de adaptação dos resultados internacionais, apoiar a integração dos centros de pesquisa às redes de P&D nacionais e internacionais e criar uma política científica mais adequada. Deve-se incubar novas empresas biotecnológicas para conectá-las aos mercados nacional e internacional. Juntamente com os principais centros do país na referida área, tem que se iniciar projetos para providenciar as condições necessárias. Uma das questões mais importantes é montar uma infra-estrutura adequada conforme as regras de Biossegurança do CTNBio nos principais centros de pesquisa da região e, finalmente, adquirir os equipamentos a serem utilizados.

Deve-se ressaltar que, em geral, a biotecnologia de hortaliças é uma ferramenta auxiliar nas mãos do melhoramento genético, que nunca será capaz de realizar na prática seus procedimentos sem esta aliança imprescindível. No Nordeste brasileiro, na área de hortaliças, o projeto de estabelecimento do Centro de Biotecnologia do IPA já deu o primeiro passo neste caminho e acreditamos que, como locomotiva científica, impulsionará a evolução de outros centros. Para isso, o estabelecimento de parcerias inter-institucionais entre os centros de desenvolvimento deverá ser um dos primeiros passos.

Parcerias entre centros nacionais e internacionais: uma orientação necessária

- Para sintonizar a realidade com as possibilidades, novas ações terão que ser tomadas pelas autoridades científicas da região, pelo menos em quatro áreas:
- Determinação das prioridades para projetos biotecnológicos regionais de hortaliças em conjunto com centros nacionais de pesquisa;
- Fortalecimento e intensificação das parcerias com centros estrangeiros de P&D selecionados, envolvendo a integração de seus pesquisadores, visitantes e consultores;
- Estímulo à formação e pós-graduação dos especialistas com maior competitividade nas principais universidades brasileiras;

- Participação em projetos e programas internacionais de pesquisa, ensino e treinamento organizados, por exemplo, pelo CBAB (Centro Brasileiro-Argentino de Biotecnologia, **ABCTP Notícias, 1997**), ou em programas de BETCENS (Biotechnology Education and Training Centers) organizados pela UNESCO (Organização Internacional da Cultura, Educação e Ciência da Organização das Nações Unidas) e outros centros internacionais conhecidos. Entre os cinco centros de BETCENS (**Vasil, 1995**), os mais importantes são o CINVESTAV (Irapuato, México) e o instituto húngaro Agricultural Biotechnology Center (ABC-Gödöllő, Hungria) onde, desde 1990, através de convênio CODEVASF/AGROINVEST, já foram treinados dez biotecnólogos brasileiros.

Ressaltamos que, na área de biotecnologia de fruteiras tropicais, no entanto, o Nordeste já iniciou alguns projetos promissores para o futuro, como um projeto internacional de transformação genética de mamoeiro, o mapeamento de bananeira, a fusão somática de laranjeira conduzidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical- CNPMF, da Embrapa (**Oliveira, 1998**), a instalação de uma estrutura de última geração da cultura de tecidos realizada pelo convênio CPATSA/ CODEVASF/AGROINVEST (**Melo, 1997**), a cultura de tecidos do cajueiro iniciada pelo Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical-CNPAT, da Embrapa (**Correia, 1997**), entre outros exemplos conhecidos.

4. Idealização de um novo modelo de pesquisa de biotecnologia para o Nordeste brasileiro: Obtenção de tomateiro industrial resistente a pragas via transformação genética

Apresentação

Às vésperas do terceiro milênio, as metodologias da biotecnologia aplicada a hortaliças oferecem muitas possibilidades para serem utilizadas em países desenvolvidos e em desenvolvimento (**Torres, 1997; Fári & Andrásfalvy 1995**), envolvendo os centros de P&D do Nordeste brasileiro. Para instalar qualquer tipo de projeto envolvendo plantas, é necessário conhecer adequadamente as principais linhas de desenvolvimento das referidas áreas e, sobretudo, os resultados obtidos, ou seja, o estado de arte das suas aplicações na prática.

Há quase vinte anos atrás, nos laboratórios dos centros de melhoramento genético do primeiro mundo, as possibilidades científicas da cultura de tecidos na época eram muito menores do que os anseios dos melhoristas de plantas. Atualmente, não podemos afirmar ainda plenamente, que as metodologias da biotecnologia aplicada são perfeitamente repetitivas; ao contrário, no entanto, neste momento sabemos muito mais sobre nossos obstáculos científicos (**Fontes & Sampaio, 1998**). Por isso, com base nos resultados obtidos pela comunidade internacional e nacional da biotecnologia vegetal, pode-se idealizar e planejar projetos muito mais adequados, como por exemplo, as empresas multinacionais estão começando a atuar no primeiro mundo e também no Brasil (**Almeida, 1998**).

Hipótese de trabalho

No Nordeste, entre as hortaliças cultivadas em maior escala ressaltam-se quatro culturas, o tomateiro, a melancia, a cebola e o melão (**Queiróz, 1998**).

Com o intuito de acelerar o desenvolvimento biotecnológico das hortaliças e fruteiras na Região do Vale do São Francisco, a partir do final do ano de 1995, a Embrapa Semi-Árido e a CODEVASF/AGROINVEST começaram a desenvolver um trabalho estratégico sobre o referido tema, baseando-se em consultoria internacional (**Fári & Melo, 1996**).

De acordo com um estudo feito recentemente pela Embrapa Semi-Árido, a CODEVASF/AGROINVEST e Universidade Federal de Viçosa/BIOAGRO (**Fári et al, 1998**), nossa hipótese de trabalho é a seguinte:

- Em primeiro lugar, achamos que o **tomateiro industrial** deveria ser considerado como um objeto de maior destaque dentre outras hortaliças da região;
- Em segundo lugar, quanto à aplicação das metodologias da biotecnologia vegetal, chegamos à conclusão que a metodologia de **transformação genética** seria a técnica ideal;
- Em terceiro lugar, em relação à utilização dos genes quiméricos disponíveis no mercado científico, acreditamos que a **introdução dos genes portadores de resistência contra pragas** seria a primeira meta mais competitiva, num curto espaço de tempo.

A fim de encaminhar um projeto piloto do tema referido, iniciamos a realização das algumas ações específicas:

Objetivo gerais

Criação de um novo sistema de colaboração entre os centros nacionais e internacionais, com a participação das instituições nordestinas de pesquisa em melhoramento vegetal e na área de engenharia genética de hortaliças;

Objetivos específicos

- (i) Elaboração do primeiro projeto modelo baseado nos procedimentos de transformação genética, das cultivares de tomateiro industrial brasileiras;
- (ii) Adaptação das metodologias e adequação das condições físicas dos laboratórios necessários para realizar as metas selecionadas;
- (iii) Realização de um trabalho pioneiro de transformação genética do tomateiro industrial com a participação dos centros envolvidos e divulgação dos resultados.

Metas gerais

- (i) Desenvolvimento de uma metodologia para regeneração *in vitro* da variedade IPA-5 e uma nova linhagem do IPA (PE);
- (ii) Adoção e adequação das condições obrigatórias de biossegurança para os laboratórios participantes e para os campos experimentais bem como a troca de metodologias necessárias, como a transformação genética do tomateiro com *Agrobacterium tumefaciens* e a avaliação de resistência do tomateiro transgênico à traça do tomateiro em nível de laboratório e de campo;
- (iii) Otimização de uma metodologia para transformação genética das referidas linhas de tomateiro através do sistema de *Agrobacterium tumefaciens*, utilizando-se os vetores especiais de transformação genética desenvolvidos pela ABC-BETCENS/UNESCO, Hungria;
- (iv) Obtenção de 100-125 linhagens transgênicas de cada variedade de tomateiro com a inserção dos genes de GNA (lectina do *Galantus nivalis* L.) desenvolvidos no Brasil pelo Cenargen-Embrapa e na Europa pelo PESTAX Ltd.(Babraham, Cambridge, Inglaterra), bem como suas caracterizações moleculares;
- (v) Avaliação do nível de expressão de resistência e/ou efetividade inseticida dos produtos dos genes introduzidos nas linhas transgênicas do tomate, através da determinação de mortalidade de larvas de traça do tomateiro em condições de laboratório e divulgação dos resultados.

Identificação dos problemas & Justificativas

Para iniciar uma campanha científica ao lado deste projeto, os argumentos mais importantes são evidentes e coerentes.

- (i) O tomateiro industrial é uma das hortaliças mais importantes do Brasil

- O Brasil ocupa uma posição de destaque no cenário mundial da produção de tomate para indústria. O processamento de tomate é o segmento mais importante da agroindústria alimentar brasileira (Nuevo, 1994). Em 1990 chegou a produzir 935 mil toneladas, em uma área de 27 mil hectares. A capacidade total de processamento instalada é da ordem de 16 mil t/dia, englobando 18 empresas com 24 fábricas espalhadas pelo Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste. O valor global do mercado, em 1995, foi da ordem de US\$ 500 milhões com o "mix de derivados" alcançando cerca de 273 mil toneladas. Atualmente, as indústrias brasileiras se preparam para ampliar suas exportações para o MERCOSUL. A produção de matéria-prima, em média, de 800 mil toneladas nas últimas três safras, não foi suficiente para atender à demanda das indústrias. Os déficits existentes vêm sendo cobertos por pasta concentrada importada da Argentina, Chile e México. No Brasil, foram produzidos cerca de 1.656.357 kg de sementes de hortaliças, correspondente em valor de produção a 2,5 bilhões de dólares em 1989 (Nascimento et al., 1989). A produção de sementes de tomate pela forma própria é considerável. Em 1989, por exemplo essa forma representou cerca 62 % (38.972 kg) da produção nacional.

(ii) O tomateiro industrial é considerado uma das hortaliças economicamente mais importantes na região do Nordeste brasileiro;

- No pólo Petrolina-PE/Juazeiro-BA, a capacidade instalada das indústrias processadoras de tomate supera 700.000 toneladas, ou 52,8 % do total nacional, demanda o cultivo de cerca de 20.000 hectares e gera empregos temporários para mais de 50.000 pessoas. Isso significa despesas de custeio de 30 a 40 milhões de dólares e um faturamento bruto da indústria em torno de 200 milhões de dólares anuais (Lócio et al., 1991). Em 1988, foram exportadas aproximadamente 30 mil toneladas de polpa no pólo Petrolina-Juazeiro, o que significou US\$ 40 milhões de receita de exportação. No ano seguinte, em 1989, a área contratada com os processadores de tomate industrial chegou a 19.100 ha e a produção a 415.000 toneladas (Espinosa, 1991). O tomate para processamento industrial, atualmente, é a principal hortaliça cultivada no Estados de Pernambuco e Bahia, não somente pela área plantada mas, também, em valor de produção e ocupação de mão-de-obra (EMBRAPA-CPATSA/FUNDESTONE, 1994). A contribuição da região em 1995, na esfera do tomate industrial, foi equivalente a 35 % de toda a produção nacional. Atualmente, cerca de 80 % das sementes de tomate utilizadas em todo o território nacional são produzidas em Pernambuco (Suplemento de Agricultura, Estado de Pernambuco, 1996).

(iii) Os problemas de ataques de pragas do tomateiro industrial são severos, ameaçando principalmente o desenvolvimento equilibrado do cultivo em algumas regiões importantes;

- Desde os anos 90, a tomaticultura industrial do Brasil vem sofrendo severos problemas fitossanitários. Segundo os técnicos especializados nessa área, os problemas concentram-se, principalmente, nas zonas de produção do Nordeste, no Submédio São Francisco (PE/BA), que enfrentou sérios ataques da traça do tomateiro, da praga do século XX, a mosca-branca, e do vírus do vira-cabeça (Asgrow de Brasil Sementes, 1996). A área plantada com tomate industrial no Vale do Submédio São Francisco caiu quase para a metade no final dos anos 80 e atualmente há cerca de 9.750 hectares, dos quais 6.750 ha são plantados em Pernambuco e 3.000 ha na Bahia. Todavia, os problemas causados pela mosca branca não se localizam apenas nessa área de produção, mas enormes perdas econômicas estão ocorrendo, também, em outras regiões do Brasil e de toda a América Latina (Haji et al., 1996). Além disso, na área da mosca branca, onde o problema é atualmente mais pronunciado, o melhoramento genético tradicional de resistência do tomateiro não pode representar nenhum ganho positivo, não somente aqui no Brasil, mas também em outros países (E. Ferraz, 1997; comunicação pessoal).

(iv) O Brasil dispõe de uma boa e competitiva estrutura de ferramentas de P&D na referida área. O país já lançou alguns projetos nacionais e tem bastante experiência para aplicar a engenharia genética em plantas economicamente importante, como o milho, o feijão e a batata-inglesa;

- No Brasil, várias culturas, produtos primeiros e sementes armazenadas sofrem o ataque severo de insetos. Por exemplo, na produção de arroz, cana-de-açúcar, milho e plantas forrageiras, o dano causado pelo gafanhoto está atingindo 2,32 milhões de hectares. Para reduzir o risco da produção agrícola, no Brasil já vêm sendo iniciados projetos de engenharia genética contra pragas, além de outras ações. Por exemplo, para obter milho resistente à lagarta do cartucho, investigações foram iniciadas com a transformação genética, utilizando-se o gene de Bt-toxina isolado da bactéria *Bacillus thuringiensis*. Um outro projeto foi iniciado com a proteína arcelina, que representa um novo candidato a agente biológico para o controle dos insetos de armazenagem (Grossi de Sa et al., 1993). No momento, os genes mais efetivos e as metodologias mais poderosas estão disponíveis no mercado científico, cujo acesso está disponível para as instituições brasileiras.

No Brasil, na área do tomateiro, há uma atuação intensa de melhoramento genético para se obter resistência efetiva contra a traça do tomateiro (*Scrobipalpus absoluta*). No caso das principais variedades brasileiras de tomateiro, as metodologias para regeneração foram desenvolvidas e/ou estão em fase de desenvolvimento. A adoção das metodologias para transformação genética do tomateiro estão também sendo encaminhadas nos principais centros de pesquisa e universidades. Alguns centros da Embrapa têm genes quiméricos nacionalizados, bem como possibilidades boas para desenvolver novos genes/vetores, portando considerável capacidade de resistência aos insetos.

Na área de agribusiness, algumas empresas iniciaram estudos de campo de novas variedades geneticamente modificadas na América Latina e no Brasil (Kaniewski, 1995; AgrEvo, 1996; Berger, 1996; Wilhermus, 1997).

Juntamente com a Embrapa, por exemplo, o AgrEvo, segunda maior empresa mundial de defensivos agrícolas, vai lançar em breve a primeira geração de produtos desenvolvidos pela engenharia genética com milho, canola e hortícolas protegidos contra insetos e tolerantes a herbicidas (AgrEvo, 1996). Um outro exemplo, a Monsanto, também apresenta interesse em desenvolver parceria com a Embrapa para conduzir pesquisa no campo com algodão transgênico resistente a pragas (CENARGENDA, 1996; Wilhermus, 1997).

(ii) O tomateiro industrial é considerado uma das hortaliças economicamente mais importantes na região do Nordeste brasileiro;

- No pólo Petrolina-PE/Juazeiro-BA, a capacidade instalada das indústrias processadoras de tomate supera 700.000 toneladas, ou 52,8 % do total nacional, demanda o cultivo de cerca de 20.000 hectares e gera empregos temporários para mais de 50.000 pessoas. Isso significa despesas de custeio de 30 a 40 milhões de dólares e um faturamento bruto da indústria em torno de 200 milhões de dólares anuais (Lócio et al., 1991). Em 1988, foram exportadas aproximadamente 30 mil toneladas de polpa no pólo Petrolina-Juazeiro, o que significou US\$ 40 milhões de receita de exportação. No ano seguinte, em 1989, a área contratada com os processadores de tomate industrial chegou a 19.100 ha e a produção a 415.000 toneladas (Espinosa, 1991). O tomate para processamento industrial, atualmente, é a principal hortaliça cultivada no Estados de Pernambuco e Bahia, não somente pela área plantada mas, também, em valor de produção e ocupação de mão-de-obra (EMBRAPA-CPATSA/FUNDESTONE, 1994). A contribuição da região em 1995, na esfera do tomate industrial, foi equivalente a 35 % de toda a produção nacional. Atualmente, cerca de 80 % das sementes de tomate utilizadas em todo o território nacional são produzidas em Pernambuco (Suplemento de Agricultura, Estado de Pernambuco, 1996).

(iii) Os problemas de ataques de pragas do tomateiro industrial são severos, ameaçando principalmente o desenvolvimento equilibrado do cultivo em algumas regiões importantes;

- Desde os anos 90, a tomaticultura industrial do Brasil vem sofrendo severos problemas fitossanitários. Segundo os técnicos especializados nessa área, os problemas concentram-se, principalmente, nas zonas de produção do Nordeste, no Submédio São Francisco (PE/BA), que enfrentou sérios ataques da traça do tomateiro, da praga do século XX, a mosca-branca, e do vírus do vira-cabeça (Asgrow de Brasil Sementes, 1996). A área plantada com tomate industrial no Vale do Submédio São Francisco caiu quase para a metade no final dos anos 80 e atualmente há cerca de 9.750 hectares, dos quais 6.750 ha são plantados em Pernambuco e 3.000 ha na Bahia. Todavia, os problemas causados pela mosca branca não se localizam apenas nessa área de produção, mas enormes perdas econômicas estão ocorrendo, também, em outras regiões do Brasil e de toda a América Latina (Haji et al., 1996). Além disso, na área da mosca branca, onde o problema é atualmente mais pronunciado, o melhoramento genético tradicional de resistência do tomateiro não pode representar nenhum ganho positivo, não somente aqui no Brasil, mas também em outros países (E. Ferraz, 1997; comunicação pessoal).

(iv) O Brasil dispõe de uma boa e competitiva estrutura de ferramentas de P&D na referida área. O país já lançou alguns projetos nacionais e tem bastante experiência para aplicar a engenharia genética em plantas economicamente importante, como o milho, o feijão e a batata-inglesa;

- No Brasil, várias culturas, produtos primeiros e sementes armazenadas sofrem o ataque severo de insetos. Por exemplo, na produção de arroz, cana-de-açúcar, milho e plantas forrageiras, o dano causado pelo gafanhoto está atingindo 2,32 milhões de hectares. Para reduzir o risco da produção agrícola, no Brasil já vêm sendo iniciados projetos de engenharia genética contra pragas, além de outras ações. Por exemplo, para obter milho resistente à lagarta do cartucho, investigações foram iniciadas com a transformação genética, utilizando-se o gene de Bt-toxina isolado da bactéria *Bacillus thuringiensis*. Um outro projeto foi iniciado com a proteína arcelina, que representa um novo candidato a agente biológico para o controle dos insetos de armazenagem (Grossi de Sa et al., 1993). No momento, os genes mais efetivos e as metodologias mais poderosas estão disponíveis no mercado científico, cujo acesso está disponível para as instituições brasileiras.

No Brasil, na área do tomateiro, há uma atuação intensa de melhoramento genético para se obter resistência efetiva contra a traça do tomateiro (*Scrobipalpus absoluta*). No caso das principais variedades brasileiras de tomateiro, as metodologias para regeneração foram desenvolvidas e/ou estão em fase de desenvolvimento. A adoção das metodologias para transformação genética do tomateiro estão também sendo encaminhadas nos principais centros de pesquisa e universidades. Alguns centros da Embrapa têm genes quiméricos nacionalizados, bem como possibilidades boas para desenvolver novos genes/vetores, portando considerável capacidade de resistência aos insetos.

Na área de agribusiness, algumas empresas iniciaram estudos de campo de novas variedades geneticamente modificadas na América Latina e no Brasil (Kaniewski, 1995; AgrEvo, 1996; Berger, 1996; Wilhermus, 1997).

Juntamente com a Embrapa, por exemplo, o AgrEvo, segunda maior empresa mundial de defensivos agrícolas, vai lançar em breve a primeira geração de produtos desenvolvidos pela engenharia genética com milho, canola e hortícolas protegidos contra insetos e tolerantes a herbicidas (AgrEvo, 1996). Um outro exemplo, a Monsanto, também apresenta interesse em desenvolver parceria com a Embrapa para conduzir pesquisa no campo com algodão transgênico resistente a pragas (CENARGENDA, 1996; Wilhermus, 1997).

(v) Atualmente há bastante experiência acumulada e um ótimo ambiente científico internacional para realizar parcerias na referida área;

- A partir dos anos 80, o desenvolvimento de OGMs (Organismos Geneticamente Modificados) começava com grande intensidade em países desenvolvidos. A fim de introduzir genes estrangeiros para o genoma hospedeiro, três metodologias foram desenvolvidas: (1) o sistema de *Agrobacterium*; (2) a integração de DNA em protoplastos isolados, e (3) o método de bombardeamento das microparticulas. Usando estes métodos de transformação genética, foram introduzidos genes oriundos de vários organismos considerados como doadores, para os genomas hospedeiros, modificando, assim, caracteres fisiológicos, morfológicos e químicos (Beck & Ulrich, 1993). Em função da introdução dos genes de resistência a pragas, a maioria das investigações publicadas foram baseadas no sistema de *Agrobacterium tumefaciens*.

Na área de pesquisa de resistência a pragas, os principais grupos de genes investigados são os seguintes (Fári et al., 1998):

- gene endo-toxina Bt;
- as lectinas, como a GNA;
- os inibidores de enzimas proteolíticas, como o inibidor de tripsina CpTI, e o inibidor de-cisteína OCI;
- os inibidores de α -amilase, como o WAI e o α -AI;
- as enzimas de glucano-hidrolases, como a quitinase BCH e
- novos candidatos, como o oxidase de colesterol, a arcelina, as vicilinas variantes.

Entre estes genes, atualmente o GNA é considerado o primeiro e, atualmente, o único candidato que apresentou atividade inseticida contra afídios e contra alguns Homopteros, envolvendo as mosca-brancas (leaf-hoppers) (Anonymus, 1996).

Este gene codifica a lectina aglutinina GNA e foi isolado na Bélgica por van Damme (1991). Através da transformação genética de plantas com lectina GNA, esforços foram iniciados para criar resistência a pragas. Até hoje, foram obtidas plantas transgênicas portadoras da lectina GNA nos casos de fumo (*Nicotiana tabacum*) resistente a *Myzus persicae* (Hilder et al., 1995) e da batata-inglesa (*Solanum tuberosum*) resistentes a *Myzus persicae* (Gatehouse et al., 1996), a *Aulacorthum solani* (Down et al., 1996) e a *Lacanobia oleracea* (Gatehouse et al., 1997). No momento, algumas pesquisas não publicadas estão sendo conduzidas na mesma linha em tomate, colza, trigo e arroz na Inglaterra (Anonymos, 1996) e em cana-de-açúcar na Austrália (Allsopp and McGhie, 1996). Além disso, o isolamento dos genes lectinas está em curso no Brasil e em vários laboratórios do mundo, como, por exemplo, as lectinas de feijão-de-corda na Índia (Indian Agricultural Res. Inst., 1995).

(vi) Na macro-esfera do agribusiness, a nível internacional, as metodologias empregadas em transformação genética do tomateiro são julgadas como procedimentos competitivos, tanto pelos setores particulares como não-particulares;

- Entre as plantas transgênicas dicotiledôneas, o tomateiro é a primeira espécie, com a qual a comercialização das investigações de engenharia genética vem começando. Nesta espécie, a regeneração foi estabelecida aproximadamente vinte anos atrás e sua técnica rotineira está muito bem documentada (Kurt et al., 1984; Sink and Reynolds, 1986). A transformação genética do tomateiro foi primeiramente realizada por Horsch et al. (1985) e, em seguida, foram publicados muitos estudos sobre esse assunto por meio dos métodos diferentes, por exemplo, via *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes* (Shahin e col., 1986; Sukhapinda e col., 1987) e através da transformação genética direta de protoplastos (Koorneef et al., 1986; Jongsma et al., 1987; Pieterse and Coornneef, 1988; Bellini et al., 1989 etc.). A Monsanto Agricultural Company (EUA) foi uma das primeiras empresas multinacionais a desenvolver uma técnica adequada para transformação genética do tomateiro, utilizando alguns genes agriculturalmente importantes e a iniciar também investigações nos campos experimentais com plantas geneticamente modificadas. Desta forma, a Monsanto realizou vários testes em diversas linhas transgênicas de tomateiro transformadas com o gene endotoxina de B.t para resistência aos Lepidópteros (Fischhoff e col.; Delanney e col., 1989).

(vii) Apesar de o tomateiro ser um dos primeiros modelos aplicados pela engenharia genética no mundo, na prática o Brasil ainda não entrou na fase de aplicação desta metodologia;

- No Brasil, poucos estudos foram publicados sobre a regeneração "in vitro" e transformação genética do tomateiro industrial. Por exemplo, Faria & Illg (1993) analisaram a capacidade de regeneração dos tomateiros Petomech, Santa Rita e VFN-8, tendo observado um baixo potencial organogenético quando comparados com o genótipo selvagem WV-700 (*L. pimpinellifolium*). Eles demonstraram que a capacidade de regeneração possui uma considerável herdabilidade, possibilitando, assim, sua transferência da espécie selvagem para variedades comerciais. A grande importância industrial e a grande área de produção criaram a necessidade de iniciar novos estudos sobre a regeneração de tomateiro industrial brasileiro (Fári et al., 1997; Fári et al., 1998).

(viii) Durante os últimos anos, a comunidade científica da referida área apresentou um progresso rápido;

- As primeiras variedades transgênicas portadoras das proteínas inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (B.t.) resistentes a pragas vêm sendo comercializadas nos EUA pela Monsanto, como a BollGard™ (algodão), NewLeaf™ (batata-inglesa) e YieldGard™ (milho). Estas proteínas inseticidas de B.t. produzidas por estes genes são ingredientes ativos de diversos inseticidas microbianos comercialmente disponíveis (Berger, 1996). Devido a estes agentes de controle serem proteínas, eles degradam-se rapidamente no meio ambiente e nos órgãos digestivos dos seres vivos, sem qualquer ação negativa contra mamíferos, peixes ou aves (EPA, 1988; Monsanto, 1993; Monsanto, 1994).

Entre os novos candidatos, inquestionavelmente, as lectinas são muito promissoras para o futuro próximo (Gatehouse et al., 1995). Verificouse, que o GNA-lectina não porta toxicidade para mamíferos e insetos benéficos (Pusztai et al., 1993) e o produto de BChI (kitinase), também não tem efeito tóxico para mamíferos.

Outras proteínas inseticidas, como o CpTI, o OCI (enzimas inibidores da proteinase), o α -AI, WAI (inibidores de α -amilase), e algumas lectinas (como lectina do germe de trigo) (Pusztai et al., 1993) são tóxicos para mamíferos. Entretanto, o tratamento de calor elimina perfeitamente estes ingredientes tóxicos, pelo mesmo processo que está usando a indústria de processamento alimentício (Schroeder, et al., 1995; Allsopp and McGhie, 1996; Pusztai and Bardócz, 1995).

Finalmente, é importante notar que todas essas proteínas ocorrem em plantas de uma forma natural, onde se associam com os mecanismos fisiológicos do sistema de defesa contra pragas herbívoras, por exemplo, as proteínas de defesa de sementes de feijão-de-corda (Xavier-Filho, 1993, Gatehouse, 1991) o feijão (Schroeder et al., 1995) ou as lectinas dos bulbos de *Galanthus nivalis* (Gatehouse et al., 1995).

No campo experimental, a primeira análise de plantas transgênicas resistentes a pragas foi iniciada pela Monsanto em 1986. Depois, 66 testes foram registradas até o final de 1992. Nesta época, a porcentagem de experiências realizadas no campo com plantas transformadas para resistência a insetos representava 13%, dentre o total dos experimentos conduzidos (Dale et al., 1993). No final dos anos 90, pode-se supor que, o número de experiências no campo deverá ser superado a nível de 250-300 investigações por ano, usando plantas transgênicas resistentes a pragas. Até o ano de 1995, as investigações foram concentradas na inserção e análise experimental de um gene com um genótipo. Além disso, a maioria dessas investigações foram realizadas com as endotoxinas bacterianas de Bt.

O trabalho de Hoffmann et al. (1992) foi o primeiro que fez uma análise comparativa com dois genes integrados de resistência transgênica no campo. A fim de estudar o nível de controle contra a *Helicoverpa zea*, neste caso, as proteínas quiméricas de CpTI e Bt (HD-73 delta-endotoxina) foram introduzidas no fumo (*Nicotiana tabacum* cv. Xanti nc e Samsun NN). Outras investigações modelos foram iniciadas sob sistemas de cultivo "fechados", como em casa de vegetação. Por exemplo, o estudo de Down et al. (1996) verificou que os resultados obtidos por meio da metodologia de nutrição artificial são idênticos aos dados obtidos nas experiências conduzidas em laboratório e em casa de vegetação. No campo experimental, o Pestax Ltda (da Inglaterra) vem organizando as primeiras investigações visando determinar o nível de resistência das frutas transgênicas de clima temperado a pragas. No momento, a Rothamsted Experimental Station vem fazendo estudos em campo experimental com as proteínas de GNA e CpTI expressadas em linhas geneticamente modificadas para estudar seus efeitos inseticidas contra nematóides (Anonymus, 1996).

(ix) Na área do regulamento da biossegurança em biotecnologia, o Brasil já atingiu um padrão elevado, tanto em nível político como científico;

- A Lei 8.974, conhecida como Lei de Biossegurança, é da autoria do Senador Marco Maciel e foi sancionada em janeiro de 1995. Ela estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização no uso das técnicas de engenharia genética na construção, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, liberação no meio ambiente e descarte de organismos geneticamente modificados (OGM). Seu Decreto Regulamentar, de Nº 1.752, foi assinado em dezembro do mesmo ano. Este decreto cria também a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), à qual é delegada, além da implementação da Lei, a autoridade de expedir instruções normativas regulamentares relativas ao uso de novas biotecnologias (Fontes & Sampaio, 1998; Valle, 1996).

De fato, além de outras ações nacionais, a colocação da Lei de Biossegurança na prática vem criando um ambiente científico excepcional e competitivo para novos projetos, gerando assim uma nova geração de cientistas internacionalmente competitiva, como, no caso da transformação genética de olerícolas, o melão (Silva et al., 1997), o alface (Lacorte et al., 1997), a batata-inglesa (Ferreira et al., 1997), o pimentão (Fontes et al., 1997), a berinjela (Rocha et al., 1997) e o feijão (Gonzálves et al., 1997), entre outros exemplos.

(x) Contribuição ao desenvolvimento integrado da agricultura sustentável do Brasil;

- No caso do tomateiro, o atraso deste tipo de desenvolvimento, em algumas regiões produtoras brasileiras, enfrentará dificuldades mais complexas de caráter fitossanitário. Pode-se ver um outro atributo importante ao tema: a indústria nacional de processamento de tomate confrontará com problemas novos na área de fabricação dos seus produtos, como o que atualmente está acontecendo no Nordeste;

(xi) Contribuição à competitividade internacional e à produtividade da agricultura brasileira;

- No caso de realização destes primeiros passos desejados, como resultado indireto, as instituições de pesquisa desta região terão condições mais favoráveis para entrar no "clube de elite biotecnológica" do país, envolvendo também na área do agribusiness de semente, uma boa chance para desenvolver a política regional de colaboração mais adequada com os líderes da referida área, a Monsanto, a AgrEvo e outras empresas multinacionais.

Metodologias

Neste projeto serão empregadas as metodologias já conhecidas e largamente aplicadas nos principais centros de pesquisa do país. Aqui, uma descrição completa das metodologias excede o volume disponível, acrescentando que, todas estas informações estão disponíveis em publicações científicas e monografias nacionais e internacionais.

Algumas palavras sobre a estrutura de pesquisa & desenvolvimento desejada

Como foi apresentado anteriormente, uma parceria multilateral será essencial neste projeto.

(i) Quanto à realização das pesquisas aplicadas, neste projeto seria ideal envolver os institutos principais de pesquisa em melhoramento vegetal do estado de Pernambuco, além da integração da universidade colaboradora deste plano, a UFV/BIOAGRO-MG;

(ii) A fim de apoiar os primeiros passos deste plano, seria essencial a integração de três centros de biotecnologia atuando na área de pesquisa básica, a Embrapa Cenargen, Brasília-DF, uma empresa biotecnológica inglesa, a PESTAX Ltd. e finalmente, um dos principais institutos biotecnológicos da Europa Central, a ABC-BETCENS/UNESCO.

Resultados esperados

(i) Este projeto influenciará, fundamentalmente, o intenso progresso técnico-biológico de dois centros de pesquisa nordestinos e não apenas na área de hortaliças;

(ii) Através deste plano, a Embrapa Semi-Árido terá as condições necessárias para completar seu Laboratório de Biotecnologia com aparelhos / metodologias essenciais para trabalhar com os OGMs. O Laboratório de Entomologia também será fortalecido com uma metodologia conforme a Lei de Biossegurança nacional. No futuro, poderão surgir outros projetos biotecnológicos, como por exemplo, na área de frutas tropicais.

(iii) O resultado final deste tipo de pesquisa será a obtenção de plantas mais resistentes a pragas. Assim, a integração do IPA-PE seria ideal, pois o melhoramento genético do tomateiro industrial é concentrado, principalmente, nesta instituição. Em breve espaço de tempo, o IPA terá todas as condições técnicas e físicas necessárias para trabalhar com as novas linhas transgênicas portadoras dos genes de resistência à traça do tomateiro.

(iv) Com base em consultoria internacional prestada por cientistas do PESTAX Ltd, os genes de GNA-lectinas poderão ser efetivos contra a traça do tomateiro em campo. Além disso, algumas linhagens transgênicas, nas quais o nível de expressão da proteína de lectina da GNA será extremamente alta, seria necessário realizar-se testes em campos experimentais para se avaliar o efeito inseticida para controle da mosca branca (C. A. Newell, 1997, **comunicação pessoal**).

(v) Sabendo-se que hoje a região do Vale São Francisco encontra-se com uma drástica redução da sua área de plantio do tomateiro, em virtude do ataque de pragas, estas plantas transgênicas, em conjunto com os esforços do melhoramento genético atual, vêm ao encontro dos anseios dos agricultores e de agroindústrias que ultimamente têm sofrido bastante com esta situação desfavorável ao agribusiness do tomate, e também consumidores que vêm alertando dos malefícios do uso indiscriminado da grande quantidade de agrotóxicos utilizados na tomaticultura contemporânea. Enfim, todos os segmentos da sociedade têm consciência de que esta prática cultural está em consonância com os princípios de uma

segmentos da sociedade têm consciência de que esta prática cultural está em consonância como os princípios de uma agricultura sustentável moderna.

(vi) Finalmente, enfatizamos que esta ação beneficiará de maneira complexa e competitiva as relações internacionais e nacionais dos centros envolvidos nas regiões de irrigação do Nordeste, em plena sintonia com a política de desenvolvimento do governo do Estado de Pernambuco e do Brasil.

5. Conclusão

O desenvolvimento da biotecnologia aplicada a hortaliças é muito rápido e atingiu um nível fascinante nos países do primeiro mundo. A maioria das metodologias já são realmente capazes de facilitar o progresso intenso do melhoramento genético, como, por exemplo, a clonagem *in vitro*, a cultura de anteras ou a transformação genética.

Atualmente, somos testemunhas do crescimento de uma competição mundial, onde os concorrentes lutam entre si para capturar uma maior porção do mercado internacional de sementes. Neste campo, os grupos líderes de empresas já incorporaram a biotecnologia vegetal. Por outro lado, os produtores de hortaliças enfrentaram novos problemas gerados pela mudança dos ambientes bióticos e abióticos.

Graças aos pioneiros, no Brasil a pesquisa da biotecnologia de hortaliças é uma disciplina bem desenvolvida. No entanto, sua aplicação na prática mostra ainda apenas alguns exemplos e achamos que ela está antes de uma evolução considerável. Por exemplo, no caso do tomateiro industrial, o tamanho do mercado nacional é tão grande que, no futuro próximo, o país não pode excluir a aplicação dos procedimentos biotecnológicos mais avançados.

No Nordeste brasileiro, o cenário é mais complexo. Nesta região, o futuro da aplicação da biotecnologia em hortaliças exigirá maior apoio administrativo e técnico do que anteriormente. Em condições ideais, isso incorporará projetos modelos e parcerias nacionais para os objetivos apontados. De acordo com um levantamento minucioso feito pelos técnicos da Embrapa Semi-Árido e da Universidade Federal de Viçosa/BIOAGRO, um dos primeiros alvos poderia ser a aplicação da transformação genética para desenvolver resistência mais complexa no tomateiro industrial contra o ataque severo de pragas.

Esta palestra teve como objetivo principal abordar as metodologias aplicadas, através da apresentação dos resultados mais importantes do assunto, na tentativa de minutar uma nova política científica baseada em parcerias, visando gerar intercâmbios mais coerentes entre as instituições da região com outros centros.

Agradecimentos

O palestrante expressa seus agradecimentos mais profundos aos líderes da CODEVASF, da Embrapa Semi-Árido, da AGROINVEST e do ABC-BETCENS/UNESCO, pela realização de um trabalho frutífero comum durante os dois anos passados. Agradece, também, a todos os colegas pelo apoio profissional durante a elaboração deste estudo.

Referências bibliográficas

- AGREVO (1966): Folha de S. Paulo, 4 de setembro de 1966.
- ALLSOPP, P.G. AND MCGHIE, T.K. (1996): Snowdrop and wheatgerm lectins and avidin as antimetabolites for the control of sugarcane whitegrubs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80: 409-414.
- ALMEIDA, R.L. (1998): Biotecnologia: a nova revolução na produção de alimentos. *Biotecnologia - Ciência & Desenvolvimento*, 2(3): 51-54.
- ANONYMUS (1996): Gene which interferes with insect reproduction found in snowdrop. *International Pest Control*, 38: p. 50.
- ASGROW DE BRASIL SEMENTES, 1996, Vol. 16, No. 45.
- BECK, C.I. AND ULRICH, T. (1993): Biotechnology in the food industry. An invisible revolution is taking place. *Bio/Technology*, Vol. 11: 895-902.
- BELLINI, C., CHUPEAU, M.-C., GUERCHE, P., VASTRA, G. AND CHUPEAU, Y. (1989): Transformation of *Lycopersicon peruvianum* and *Lycopersicon esculentum* L. mesophyll protoplasts by electroporation. *Plant Sci.*, 65: 63-75.

- BERGER, G.U. (1996): Inovação na agricultura: o impacto de plantas transgênicas no manejo ecológico de pragas. V. SICONBIOL, Simpósio de Controle Biológico. 9 a 14 de Junho de 1996, Foz do Iguaçu - Paraná, Brasil. Anais: Conferências e Palestras, p. 134-138.
- CENARGENDA (1996): Vol. 4, No. 28, outubro de 1996, p. 12.
- CORREIA, D. (1997): Biotecnologia aplicada à problemática dos estados do Nordeste. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.47.
- CUNHA, M.A.P., de. Melhoramento genético vegetal no nordeste: grandes linhas e estratégias de atuação. XIII Encontro de Genética do Nordeste, 05 a 08 de abril de 1998, Cruz das Almas, BA, Anais, p. 232 a 258.
- DALE, P.J., IRWIN, J.A. AND SCHEFFLER, J. A. (1993): The experimental and comercial release of transgenic crop plants. *Plant Breeding* 111: 1-22.
- DOWN, R.E., GATEHOUSE, A.M.R., HAMILTON, W.D.O., GATEHOUSE, J. A. (1996): Snowdrop lectin inhibit development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacortum solani*) when administered *in vitro* and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. *J. Insect Physiol.*, 11-12: 1035-1045.
- EMBRAPA-CPATSA, Recomendações técnicas para o cultivo do tomate industrial em condições irrigadas. Petrolina, P.E: EMBRAPA-CPATSA/FUNDESTONE, 1994, 52. p., EMBRAPA - CPATSA. Circular Técnica, 30.
- EPA (1988): Guidance for the reregistration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as the active ingredient. NTIS PB 89-164-198.
- ESPINOSA, W. (1991): Manual de produção de tomate industrial no Vale do São Francisco, CODEVASF/IICA, Brasília-DF, 1991, p. 301.
- FERREIRA, A.T., ROMANO, E. & TORRES, A.C. (1997): Genetic transformation of potato (*Solanum tuberosum* L. cvs. Baronesa e macaca) for resistance to the potato leaf roll virus (PLRV). II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.236.
- FÁRI, M. & ANDRÁSFALVY, A. (1995): Impact of biotechnology on vegetable breeding. *Hungarian Agricultural Research*, 3(4): 36-45.
- FÁRI, M. & MELO, N.F, DE (1996): Estratégia da biotecnologia de plantas na região semi-árida do nordeste brasileiro e plano de trabalho para o Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa-CPATSA no período 1996-2000. Petrolina: Embrapa-CPATSA, 1996, 25 p. Manuscrito.
- FÁRI, M., RESENDE, G., M.; MELO, N. F. Regeneração "*in vitro*" de tomate industrial visando a transformação genética. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 12., Maceió, 1997. Resumos. Maceió, UFAL, 1997b. p.128.
- FÁRI, M., WAGNER, C.O., RESENDE, G., MELO, N.F. & MENEZES, E. A. (1998): Impacto da transformação genética no melhoramento genético do tomate industrial resistente a pragas. Manuscrito.
- FARIA, R. T.; ILLG, R. D. Introgessão da capacidade de regeneração de plantas "*in vitro*" no tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, REDBIO, 1., Brasília, 1993. Resumos. Brasília, Embrapa, 1993. p.102.
- FISCHOFF, D.A., BOWDISH, K.S., PERLACK, F.J., MARRONE, P.G., MCCORMICK, S.M., NIEDERMAYER, J.G., DEAN, D.A., KUSANO-KRETZMER, K., MAYER, E.J., ROCHESTER, D.E., ROGERS, S.G. AND FRALEY, R.T. (1987): Insect tolerant transgenic tomato plants. *Bio/Technology* 5: 807-813.
- FONTES, E.M.G & SAMPAIO, M. J. A. (1998): Biossegurança e a agrobiotecnologia de ano 2000. *Biotecnologia - Ciência & Desenvolvimento*, 2(3): 41-48.
- FONTES, M.A., AIVIM, F.C., MAIA, V.S., FONTES, E.P.B., BROMMONSCHENKEL, S.H. & Otoni, W.C. (1997): Shoot-like structures expressing *Agrobacterium*-mediated introduced genes in pepper (*Capsicum annum* L. cv. Casca Dura IKEDA). II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.249.
- GASSER, C.S. & FRALEY, R. (1992): *Scientific American*, 266: 62-69.
- GATEHOUSE, A.M.R., DAVIDSON, G.M., NEWELL, C.A., MARRYWEATHER, A., HAMILTON, W.D., BURGESS, E.P.J. GILBERT, R.J.C. AND GATEHOUSE, J.A. (1997): Transgenic potato plants with enhanced resistance to the

- E.P.J. GILBERT, R.J.C. AND GATEHOUSE, J.A. (1997): Transgenic potato plants with enhanced resistance to the tomato moth, *Lacanobia oleracea*: Growth room trials. *Molecular Breeding (in press)*.
- GATEHOUSE, A.M.R., DOWN, R.E., POWELL, K.S., SAUVION, N., RAHBÉ, Y., NEWELL, C.A., MARRYWEATHER, A., HAMILTON, W.D. AND GATEHOUSE, J.A. (1996): Transgenic potato plants with enhanced resistance to the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 79: 295-307.
- GATEHOUSE, A.M.R., POWELL, K.S., PEUMANS, W.J., VAN DAMME, E.J.M. AND GATEHOUSE, J.A. (1995): Insecticidal properties of plant lectins: their potential in plant protection. In: Pusztai, A., Bardócz, S. (eds.): *Lectins. Biomedical perspectives*, Taylor and Francis, Hants, UK, 35-57.
- GONZÁLEZ, E.R., TSAI, S.M. FIGUEIRA, A. (1997): Optimizando la transformacion genica de *Phaseolus vulgaris* L. mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.243.
- GROSSI DE SA, M.-F., DE SOUZA, C., GERHARDT, I., FERREIRA, P., VENTURA, M., MELLO, L., VALLE, M., AZEVEDO, M. AND PAES, N. (1993): Arceñin: application for resistance against bruchids. I. Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, Brasília-DF, 13 a 17 de dezembro de 1993, p.20.
- HABERLANDT, G. (1902): Culturversuche mit isolierten Pflanzencellen. *Sb. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Cl.*, 111, Abt. 1, 69-91.
- HAJI F.N.P., ALENCAR, J.A. DE E LIMA, M.F. (1996): Mosca branca: danos, importância econômica e medidas de controle, EMBRAPA - CPATSA, Documentos No. 83, ago./96, p. 1-9.
- HILDER, V. A., POWELL, K.S., GATEHOUSE, A.M.R., GATEHOUSE, J. A., GATEHOUSE, L.N., SHI, Y., HAMILTON, W.D.O., MERRYWEATHER, A., NEWELL, C.A., TIMANS, J.C., PEUMANS, W.J., VAN DAMME, E. AND BOULTER, D. (1995): Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphids. *Transgenic Research*, 4: 18-25.
- HOFFMANN, M.P., ZALOM, F.G., WILSON, L.T., SMILANICK, J.M., MALYJ, L.D., KISER, J., HILDER, V.,A. AND BARNES, W.M. (1992): Field evaluation of transgenic tobacco containing genes encoding *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin or Cowpea trypsin inhibitor: Efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 85: 2516-2522.
- HORSCH, R.B., FRY, J.E., HOFFMANN, N.L., EICHOLTZ, D., ROGERS, S.G. AND FRALEY, R.T. (1985): A simple and general method for transferring genes into plants. *Science*, 227: 1229-1231.
- INDIAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE (1995): %. Basic and Strategic Research: Biotechnology, Annual Report, 1994-95, New Delhi, pp. 87-92.
- JONGSMA, M., KOORNNEEF, M., ZABEL, P. AND HILLE, J. (1987): Tomato protoplast DNA transformation: physical linkage and recombination of exogenous DNA sequences. *Plant Mol. Biol.*, 8: 383-394.
- KANIEWSKI, W.K. (1995): Field trials of transgenic plants: Monsanto perspective. REDBIO'95, Segundo Encuentro Latinoamericano de Biotecnologia Vegetal, 4 al 9 de Junio de 1995, Puerto Iguazu, Argentina, S-VII.
- KOORNNEEF, M., HANHART, C., JONGSMA, M., TOMA, I., WEIDE, R. ZABEL, P. AND HILLE, J. (1986): Breeding of tomato genotypes readily accessible to genetic manipulation. *Plant Sci.* 45: 201-208.
- KUT, S.A., BRAVO, J.E. AND EVANS (1984): TOMATO. IN: P.V. AMMIRATO, D. EVANS, W.R. SHARP AND YAMADA, Y. (Editors). *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 3. MacMillan, New York, pp. 247-289.
- LACORTE, C., BARROS, D. & TORRES, A.C: (1997): Transformation of lettuce and production of herbicide resistant plants. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.241.
- LÓCIO, A.B. E MACHINEA, V.E. (1991): Introdução. Em W. Espinosa: *Manual de produção de tomate industrial no Vale do São Francisco*, CODEVASF/IICA, Brasília-DF, 1991, p. 301.
- MARTIN, G.; WONG, L.R. Demografia. In: Projeto Ardinás (Brasília, DF). *Uma estratégia de desenvolvimento sustentável para o Nordeste: GT.III-Desenvolvimento humano e social*. Brasília: SEPLAN, 1994 v.3.
- MELO, N.F de (1997): Micropropagação de fruteiras para o Semi-árido Nordeste. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.50.
- MONSANTO (1993): Request for the registration of the plant pesticide *Bacillus thuringiensis var. tenebroides* (B.t.t)

- MONSANTO (1993): Request for the registration of the plant pesticide *Bacillus thuringiensis* var. *tenebroides* (B.t.t) Colorado potato beetle control protein (CryIIIa) and exemption from the requirement of a tolerance for this B.t.t. protein. Submission to the Environmental Protection Agency, Monsanto File No. 93-081E., EPA File No. 524-UTU. MRID numbers 42932201 through 4293220.
- MONSANTO (1995): Request for the registration and exemption from the requirement of a tolerance for the plant pesticide *Bacillus thuringiensis* var. *kurtzaki* (B.t.k) insect control protein (CyIA(c)). Submission to the Environmental Protection Agency, Monsanto File No. 94-041E., EPA File No. 524-UTI. MRID numbers 43145201 through 43145215.
- NASCIMENTO, W., MOREIRA, H.M. MENEZES, J.E. AND GUEDES, A.C. (1994): Produção e importação de sementes de hortaliças no Brasil - 1986/1989, EMBRAPA - CNPH, Documentos, 10, Brasília-DF, p. 175.
- NUEVO, P.A.S. (1994): Aspectos da cadeia agro-industrial do tomate no Brasil. Informações Econômica, SP, Vol. 24, No. 2, 31-44).
- OLIVEIRA, R.P. Emprego de técnicas de biotecnologia em apoio a programas de melhoramento genético de fruteiras. XIII Encontro de Genética do Nordeste, 05 a 08 de abril de 1998, Cruz das Almas, BA, Anais, p. 223 a 231.
- PIETERSE, C. & KOORNNEEF, M. (1988): Optimization of direct gene transfer in tomato. In: K.J. Puite, J.J.M. Dons, H.J. Hunzing, A.J. Kool, M. Koornneef, M. and F.A. Kerns (Editors), Progress in Plant Protoplast Research, Kluwer, Dordrecht, pp. 357-358.
- POTRYKUS, I. (1991): Gene transfer to plants. Ann. Rev. Plant. Physiol., 42: 205-222.
- PUSZTAI, A.J., EWEN, S.W.B., GRANT, G., BROWN, D.S., STEWART, J.C., PEUMANS, W.J., VAN DAMME, E.J.M. AND BARDÓCZ, S. (1993b): Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other 50N-acetylglucosamine-specific lectins. British Journal of Nutrition, 70: 313-321.
- PUSZTAI, A.J., GRANT, G., SPENCER, R.J., DUGUID, T.J., BROWN, D.S., EWEN, S.W.B., PEUMANS, W.J., VAN DAMME, E.J.M. AND BARDÓCZ, S. (1993a): Kidney bean lectin-induced *Escherichia coli* overgrowth in the small intestine is blocked by GNA, a mannose-specific lectin. J. Appl. Bacteriol., 75: 360-368.
- PUSZTAI, A., BARDÓCZ, S. (1995): Lectins. Biomedical perspectives, Taylor and Francis, Hants, UK.
- QUEIRÓZ, M.A., de. A contribuição de genética vegetal para a agricultura do semi-árido brasileiro: uma reflexão para orientadores de pesquisa. XIII Encontro de Genética do Nordeste, 05 a 08 de abril de 1998, Cruz das Almas, BA, Anais, p. 30 a 41.
- ROCHA, A. P.M., MAGIOLI, C., OLIVEIRA, D.E., PINHEIRO-MARGIS, M. & MANSUR, E. (1997): Establishment of an efficient transformation protocol for eggplant. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.237.
- SCHROEDER, H.E., GOLLASCH, S., MOORE, A., TUBE, M., CRAIG, S., HARDIE, D.C., CHRISPEELS, M.J., SPENCER, D. AND HIGGINS, T.J. (1995): Bean α -amylase inhibitor confers resistance to the pea weevil (*Bruchus pisorum*) in transgenic peas (*Pisum sativum* L.). Plant Physiol., 107: 1223-1239.
- SHADE, R.E., SCHROEDER, H.E., PUEYO, J.J., TUBE, L.M., MURDOCK, L.L. HIGGINS, T.J.V. AND CHRISPEELS, M.J. (1994): Transgenic pea expressing the α -amylase inhibitor of the common bean are resistant to the bruchid beetles *Calosobruchus maculatus* and *C. chinensis*. Bio/Technology, 12: 793-796.
- SHAHIN, E. A., SUKHAPINDA, K., SIMPSON, R.B. AND SPIVEY, R. (1986): Transformation of cultivated tomato by a binary vector in *Agrobacterium rhizogenes*: transgenic plants with normal phenotypes harbor binary vector T-DNA, but no Ri-plasmid T-DNA. Theor. Appl. Genet., 72: 770-777.
- SILVA, F.B.R.; e RICHE, G.R.; TONNEAU, J.P. SOUSANETO, N.C. de; BRITO, L.T, de; CORREIRA, R.C.; CAVALCANTI, A.C.; SILVA, F.H.B.B. da; ARAÚJO FILHO, J.C. de. Zoneamento agroecológico do Nordeste: diagnóstico do quadro natural e agrossocioeconômico. Petrolina, PE: EMBRAPACPATSA/Recife:EMBRAPA-CNPS. Coordenadoria Regional Nordeste, 1993, 2v.il.
- SILVA, J. A., ZIMMER, P.D., PETERS, J.A. & ROMBALDI, C.V. (1997): Transformação genética do melão (*Cucumis melo* L.) cv. Gaúcho. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.246.
- SINK, K.C. & REYNOLDS, J.F. (1986): Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.): In: Y.P.S. Bajaj (Editor), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 2: Crops I, Springer, Berlin, pp. 319-344.

SUKHAPINDA, K., SPIVEY, R., SIMPSON, R.B. AND SHAHIN, E.A. (1987): Transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) transformed with a binary vector in *Agrobacterium rhizogenes*: Non-chimeric origin of callus clone and low copy numbers of integrated vector T-DNA. *Mol. Gen. Genet.*, 206: 491-497.

SUPLEMENTO DE AGRICULTURA, Estado de Pernambuco (1996)

TORRES, A.C. (1997): Técnicas biotecnológicas no melhoramento genético de hortaliças. II Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, 24 a 28 de novembro de 1997, Gramado-RS, Resumos, P.15.

VALLE, S. (1996): Regulamentação da biossegurança em biotecnologia. Legislação brasileira. Fundação Biblioteca Nacional, P. 1-40.

VASIL, I.K. (1995): Plant biology and biotechnology at UNESCO. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, IAPTC, 1v (2), p.102 a105.

WILHERMUS, U. (1997): Impactos da Biotecnologia no Brasil. *Cenargenda*, ano V, No. 36 (maio de 1997): p. 5 (palestra sumariada)

XAVIER-FILHO, J. (1993): Proteínas de defesa de sementes de *Vigna unguiculata*. Iº Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal, REDBIO Sub-região Brasil, Brasília/DF, 13-17 de Dezembro 1993. P-19.

