NÚCLEO DE PESQUISA EM BIOTECNOLOGIA APLICADA

I. Identificação

O Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada proposto pelo Departamento de Agronomia ficará vinculado administrativamente ao Centro de Ciências Agrárias.

II. Histórico do trabalho realizado pelo grupo proponente

A imperiosa necessidade de se introduzir produtos agrícolas num mercado cada vez mais competitivo, conduz ao aprimoramento na produção dos mesmos, tendo que transformá-los e deste modo precisam ter sua qualidade apurada. Essa busca de qualidade no produto final, elaborado ou não, passa primeiramente por uma condução mais acurada das atividades laboriosas envolvidas no processo.

Nos produtos de origem vegetal a escolha da variedade, do local, época ideal para o plantio, as recomendações para o controle de pragas e doenças, por outro lado, os produtos de origem animal também, devem ser escolhidos nas suas introduções, optar por aqueles genética e ambientalmente mais adaptados, enfim o agronegócio, passa primeiramente por um crivo de pré-condições para que possa vir a ser considerado como tal.

Esse mercado agropecuário vem passando por reformulações face as exigências dos consumidores cada vez mais exigindo qualidade. No mercado globalizado exigências consideradas utópicas em nosso país até recentemente são realidades na Europa e nos Estados Unidos. A observância quando da utilização dos agroquímicos tanto em animais como em plantas passa a ser hoje, mais do que uma

preocupação ecológica ou de saúde, um fator limitante a introdução nesse mercado globalizado.

A proposta aqui delineada visa, num primeiro momento avaliar as condições fitossanitárias em que as principais atividades agropecuárias do Estado se encontram.

Alguns pontos, em culturas de interesse já tem seu perfil traçado. Após essa avaliação preliminar uma estratégia de ação poderá ser traçada.

Conforme levantamento realizado, em 1991, pelo IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - o Paraná caracteriza-se por ser o principal Estado responsável pela agricultura no Brasil, contribuindo com até 25% da produção nacional de grãos.

Nesse contexto, torna-se necessário o aumento da produtividade, de forma que a agropecuária paranaense atinja níveis cada vez mais competitivos, tanto no cenário nacional, quanto internacional, principalmente agora, com a implementação do MERCOSUL. A maior competitividade da agropecuária brasileira e em especial da paranaense, só será alcançada com a geração e a adaptação de novas tecnologias, bem como, através da obtenção de mão-de-obra, que apresente o mais elevado grau de capacitação e treinamento.

O Núcleo objetiva contribuir para a geração e adaptação de novas tecnologias às diferentes atividades do sistema produtivo estadual, através dos diferentes segmentos do conhecimento científico a serem seguidos pelos docentes pesquisadores responsáveis pelo Núcleo, com elevado grau de qualificação, que saberão conduzir ações conjuntas, visando desenvolverem propostas, que venham de encontro aos anseios dos agropecuaristas.

Destaca-se entre seus pontos fortes a integração, em seu caráter multidisciplinar definido na participação de docentes com diferentes linhas de pesquisa. O corpo docente do Núcleo inicia-se com quatro professores doutores-pesquisadores.

Os projetos de pesquisas dos docentes envolvidos no Programa vem sendo a algum tempo direcionado para a busca de soluções no contexto da agropecuária regional e, mais recentemente, vem utilizando-se de ferramentas de biologia molecular como instrumento facilitador na busca de respostas aos problemas elencados.

Nos últimos anos, através da submissão de projetos às fontes financiadoras, os componentes do grupo que ora propõe a criação do Núcleo, viabilizou-se financeiramente conforme listagem dos projetos aprovados descritos no item V. A introdução do uso de biologia molecular aplicada na investigação de doenças em plantas e estudos de diversidade em patógenos e plantas como ferramenta alavancadora foi a premissa para a implantação desse Núcleo.

III. Caracterização da Pluridisciplinaridade

O uso da Biologia Molecular como ferramenta nos diversos projetos do grupo desse Núcleo aliado a outras técnicas tais como micropropagação, melhoramento de plantas, epidemiologia, fitopatologia por si só justificaria a pluridisciplinaridade. Os pesquisadores do Centro de Citricultura Sylvio Moreira (CCSM) do Instituto Agronômico de Campinas, tais como o Dr. Marcos A. Machado participarão do Núcleo, uma vez que o mesmo coordenada dois projetos multi-institucional e multidisciplinar. Ainda virá para atuar no Núcleo, por um período de 36 meses, o Dr. Gerd W. Müller, pesquisador aposentado do CCSM.

Entende-se que a melhor explanação das diversas áreas do conhecimento estão explicitadas nos diversos projetos em andamento e aprovados com recursos externos (CNPq, Prodetab, International Fundation for Science (Suécia)).

IV. Plano de trabalho

A implantação do Núcleo requer uma dedicação especial dos docentes envolvidos, pois o objetivo maior deste Núcleo será organizar as ações dentro dos diferentes projetos, para tanto em linhas gerais, de acordo com os objetivos propostos poderemos enumerá-los da seguinte forma:

Objetivos Específicos

- 1- Relacionados a implantação e manutenção do Laboratório de Diagnose por Biologia Molecular.
- Implantação com todos os equipamentos e materiais necessários para realização de diagnose e manutenção do mesmo;
- Capacitação para certificação fitossanitária dos produtos de produtos de origem animal e vegetal;
- Estabelecimento de marcadores RAPD, AFLP e microssatélites, tipo 'fingerprint', para caracterização das espécies e variedades de interesse e que apresentem baixo polimorfismo genético;
- Estabelecimento de um banco de dados com todas informações disponíveis sobre as espécies e variedades de interesse, incluindo fotos e marcadores moleculares.
- 2- Relacionados com a implantação e fornecimento de material de propagação e de serviço de diagnóstico
- Implantação da capacidade de fornecimento e manutenção de matrizes de espécies de interesse;

- Ampliação das estruturas (casa-de-vegetação e clínica fitopatológica) e da capacidade de prestação de serviço de diagnóstico das doenças de interesse.

3- Relacionados à obtenção de novas progênies e estudos de herança

- Efetuar cruzamentos controlados e recuperar progênies;
- Estabelecer sistema de avaliação de resistência às doenças em casa-devegetação e *in vitro*;
 - Implantar um sistema de avaliação de doenças no campo;
- Estabelecer sistema de avaliação de danos das doenças em diferentes genótipos em casa de vegetação e no campo;
 - Avaliar herança dessas características nas progênies obtidas.

4- Relacionados aos marcadores moleculares

- Estabelecer rotina de marcadores RAPD;
- Estabelecer rotina de marcadores AFLP;
- Estabelecer e següenciar microssatélites de espécies de interesse;
- Estabelecer rotina de marcadores microssatélites;
- Estabelecer rotina para sequenciamento.

5- Relacionados ao mapeameto genético

- Implantar metodologia para execução de mapeamento genético;
- Corrrelacionar marcadores com as características avaliadas das doenças em espécies de interesse;
- Estabelecer mapa genético com marcadores AFLP e microsatélites das progênies resultantes dos cruzamentos realizados nas espécies de interesse;

- Investigar a ligação das características avaliadas com o mapa de marcadores AFLP e microsatélites.

Metas

1- Relacionadas com os objetivos 1

- #1 Aquisição de material permanente necessário para a implantação do laboratório de diagnose;
- #2 Promover, através de microenxertia, a limpeza clonal das espécies de interesse (citros);
- #3 Diagnosticar, por indexação biológica, as viroses de citros, e por serologia e PCR, clorose variegada dos citros e vírus da tristeza dos citros;
- #4 Contratação do serviço de assessoria para montagem do banco de dados sobre as espécies de interesse.

2- Relacionadas com os objetivos 2

- #5 Construção de um estufa coberta (telado) de 1000 m² para produção e fornecimento de borbulhas de citros livres de doenças;
- #6 Aquisição de material permanente e equipamentos para a clínica fitopatológica, de modo a aumentar a capacidade de prestação de serviço de diagnóstico das doenças;
- #7 Ampliação do espaço físico da clínica fitopatológica para adequação na prestação de serviços de diagnóstico;

3- Relacionadas com os objetivos 3

#8 - Efetuar o cruzamento entre as espécies e variedades de interesse selecionadas.

- #9 Avaliar, através de marcadores RAPD, as progênies obtidas;
- # 10 Avaliar com marcadores microsatélites e AFLP as progênies obtidas;
- # 11 Promover melhoria das instalações (casa-de-vegetação) para avaliação de herança de resistência às doenças nas progênies das espécies de interesse;

4- Relacionadas com os objetivos 4

- # 12 Aquisição de sistema de seqüenciamento automático para os trabalhos de marcadores microssatélites;
- # 13 Promover o treinamento de um pesquisador em um núcleo com experiência em microssatélites (Centro de Citricultura Sylvio Moreira IAC);
- # 14 Promover treinamento de um técnico na técnica de AFLP (Centro de Citricultura Sylvio Moreira IAC);
- # 15 Obter número de microssatélites adequados para realizar os trabalhos de melhoramento;

5- Relacionadas com os objetivos 5

- # 16 Aquisição de softwares para análise de RFLP e RAPD em sistema de fotodocumentação;
- # 17 Avaliar grupos de ligação no mapa das progênies de interesse, obtidas na meta# 10;
- # 18 Avaliar grupos de ligação no mapa das progênies de interesse, se os marcadores AFLP e microsatélites resolvam esse grupo;

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

			Sen						
Meta #	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Х								
2	Χ		Х		X		X		
2 3 4 6 7	Χ	X	X						
4	Χ	Χ	Х	Χ					
6		X	Х						
	X								
8	X								
9	X								
10	X	Χ	Χ	Χ					
12		Χ	Χ	Χ	Χ				
12			Χ	Χ	Χ				
13	X	Χ							
14	Х								
15	Χ								
16		X	Χ	X	Х				
17	Χ								
18		X	X	X	Χ	X	X	X	
Relatórios		Χ		Χ		Χ			Χ

V. Fontes de recursos financeiros e humanos detalhados (para criação e manutenção do Núcleo):

Projetos aprovados:

1- Projeto de pesquisa - Integração de Melhoramento Genético, Genoma Funcional e Comparativo de Citros, que tem como Instituições participantes da Rede: Instituto Agronômico de Campinas IAC/ Centro de Citricultura Sylvio Moreira; Universidade Estadual de Maringá - UEM/PR; Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP; Universidade Estadual Paulista - UNESP; FUNDAG/Fundação de Apoio a Pesquisa Agrícola/SP; Universidade Federal de Lavras - UFLA/MG, obteve aprovação de financiamento junto ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq. Valor total do projeto R\$ 4.380.000,00, período de vigência: 36 meses a partir de 20/12/2001.

UEM: R\$ 978.728,00. Coordenador: Dr. William Mário de Carvalho Nunes. Pessoal no projeto: 1 bolsa recem-doutor, 3 bolsas de Iniciação Científica.

- 2- Projeto de pesquisa Análise genômica e funcional da patogenicidade de Xanthomonas axonopodis pv citri em laranja (Citrus sinensis L. Osb.), financiado pelo Projeto de Apoio ao Desenvolvimento de Tecnologias Agropecuárias para o Brasil Prodetab (Embrapa) também em conjunto com o Instituto Agronômico de Campinas IAC/ Centro de Citricultura Sylvio Moreira, é outro projeto que ficará vinculado ao Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada Valor total (Prodetab) do projeto R\$ 593.020,00. Período de vigência: 35 meses, janeiro/2002 a dezembro/2004. UEM: R\$ 137.520,00. Coordenador: Dr. William Mário de Carvalho Nunes.
- 3- Projeto de pesquisa (proc. 2894/99-UEM): Monitoramento e desenvolvimento de métodos de controle e diagnóstico de clorose variegada dos citros (CVC), tristeza, podridão floral e cancro cítrico. Agente financiador CNPq/RHAE. Proc. 610070/99-1, que disponibiliza 1 bolsa DTI e 1 bolsa ITI. Coordenador: Dr. William Mário de Carvalho Nunes.
- 4- Projeto de pesquisa: Avaliação da distribuição espacial e da variabilidade de Xylella fastidiosa, agente causal da clorose variegada dos citros, por meio do uso de PCR, no Noroeste do Paraná. Agente financiador: CNPq. Proc. 420.131/01-9. Valor financiado: R\$ 11.894,00. Período de vigência: setembro/2001 a agosto/2002. Coordenador: Dr. William Mário de Carvalho Nunes.
- 5- Projeto de pesquisa: **Estudos com cigarrinhas vetoras de** *Xylella fastidiosa* **em citros no Noroeste do Paraná.** Agente financiador: CNPq. Proc. 520.491-00-9. Disponibiliza 1 bolsa de Iniciação Científica. Período de vigência: 01/07/2000 a 30/06/2002. Coordenador: Dr. William Mário de Carvalho Nunes.
- 6- Projeto de pesquisa: Identificação e caracterização de espécies de Fusarium que causam giberela em cereais de inverno na região sul do

Brasil. Agente financiador: International Fundation for Science (Suécia). Valor financiado: **R\$ 22.200,00**. Coordenador: Dr. Dauri José Tessmann.

- 7- Projeto de pesquisa: Palmito de pupunha (Bactris gasipes): uma alternativa sustentável para o aproveitamento de áreas abandonadas e/ou degradadas pela agricultura no "domínio da mata Atlântica". Agente Financiador: Prodetab. Valor total (Prodetab) do projeto R\$ 375.164,00. Período de vigência: 36 meses, outubro/2000 a setembro/2003. UEM: R\$ 145.893,00. Coordenador: Dr. Dauri José Tessmann.
- 8- Projeto de pesquisa: Estudos de manejo das doenças fúngicas da parte aérea da cultura de uva fina de mesa na região Noroeste do Estado do Paraná. Agente Financiador: Programa Paraná 12 meses (Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento SEAB) Valor total (Prodetab) do projeto R\$ 27.270,00. Período de vigência: 24 meses, janeiro/2001 a dezembro/2002. Coordenador: Dr. Dauri José Tessmann.

Total de Recursos: R\$ 1.323.505,00

Recursos Humanos:

Docentes participantes Departamento

1- Dr. Dauri José Tessmann
2- Dr. João Batista Vida
3- Dra. Maria Júlia Corazza Nunes
4- Dr. William Mário de Carvalho Nunes

Funcionários

1- Mauro José Moreira DAG 2- José Junior Severino DAG

3- José Alcides Remolli

Pesquisador Visitante

1- Dr. Gerd Walter Müller bolsista CNPq (1A)

Acadêmicos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia

1- Aristides Novac Garcia bolsista CAPES

- 2- Waldecy Matos da Silva Leonel
- 3- Maria Lúcia Zanineli Ré
- 4- Janaína Ciboto Mulati

Bolsistas

1- Carlos Alexandre Zanutto DTI (7F) – CNPq/RHAE(proc.360214/2000-2) 2- Gisely Figueiredo Lacanallo ITI (1A) – CNPq/RHAE(proc.160187/2000-1) 3- Rúbia de Oliveira Molina IC-balcão CNPq(proc.101029/2000-4)

4- Leandro Corazza Rodrigues IC 5- Adriana Terumi Itako IC

VI. Regulamento do Núcleo

Regulamento do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada

CAPÍTULO I DAS FINALIDADES

- Art. 1°. O Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada, vinculado ao Centro de Ciências Agrárias, tem por finalidades:
 - I desenvolver pesquisas e estudos multidisciplinares sobre temas relacionados com a Biotecnologia;
 - II incentivar, articular, sistematizar as atividades relacionadas à Biotecnologia que venham a ser desenvolvidas no Núcleo de pesquisa em biotecnologia aplicada;
 - III preparar recursos humanos para atuar na área de Biotecnologia;
 - IV prestar assessoria, consultoria e/ou outros serviços à Universidade Estadual de Maringá e/ou outras instituições públicas ou privadas, em temas de Biotecnologia;
 - V apoiar e incentivar projetos de pesquisa na área e em áreas afins, que complementem conhecimento sobre questões identificadas como importantes para o desenvolvimento dos objetivos do Núcleo;
 - VI organizar fóruns de debates com pesquisadores, para traçar rumos e estabelecer alternativas viáveis para expandir as atividades relacionadas à Biotecnologia;
 - VII promover periodicamente cursos e outros eventos com a finalidade de ampliar e aprofundar o estudo e a reflexão sobre questões da Biotecnologia;
 - VIII fomentar o intercâmbio e atuar como agente de integração com outras instituições, públicas ou privadas, que desenvolvam atividades voltadas para a Biotecnologia;
 - IX participar de redes multissetoriais específicas;
 - X ativar convênios com instituições financiadoras e de fomento de projetos voltados para a Biotecnologia;
 - XI estabelecer uma rede de estudiosos e pesquisadores destinada ao intercâmbio de conhecimento referente à Biotecnologia;
 - XII divulgar os resultados das pesquisas, estudos e encontros por meio de publicação regular.
- Art. 2°. O Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada reger-se-á pelo Estatuto e Regimento da UEM, pelas disposições deste regulamento e por outras normas e determinações superiores.

CAPÍTULO II

DA ORGANIZAÇÃO

Seção I – Recursos Humanos

- Art.3°. O Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada será composto pelos seguintes membros:
 - I Docentes vinculados a órgãos da Universidade Estadual de Maringá e que desenvolvam atividades que se coadunem com o âmbito de atuação do Núcleo;
 - II- Servidores Técnico-administrativos lotados ou vinculados ao Núcleo, participando de atividades de pesquisa e/ou apoio;
 - III Alunos estagiários bolsistas com orientador e atividades vinculadas ao Núcleo.

Seção II - Estrutura

- Art. 4°. O Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada organizar-se-á em:
 - I Conselho Permanente;
 - II Coordenação Geral;
 - III Coordenação Técnico-Científico;
 - IV Atividades de Secretaria:
 - V Atividades Discentes.
- Art. 5°. O coordenador geral do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada será escolhido dentre seus participantes pelos membros permanentes e nomeado pelo reitor, de acordo com as normas vigentes.
 - Parágrafo único. O mandato do coordenador geral será de 2 anos, podendo ser reconduzido.
- Art. 6°. O Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada será composto por membros permanentes, membros representantes, membros associados e membros correspondentes.
 - §.1°. São membros permanentes os professores da Universidade Estadual de Maringá integrantes do Núcleo;
 - $\S.2^{\circ}$. São membros representantes profissionais de renomado conhecimento técnico nos estudos de biotecnologia, que representarão o Núcleo em estados brasileiros, em países, ou regiões de países, no exterior.
 - §.3°. São membros associados as instituições ou profissionais, nacionais ou estrangeiros, que tenham interesse em intercâmbio e cooperação com o Núcleo.
 - §.4°. São membros correspondentes profissionais e pesquisadores envolvidos com a Biotecnologia, ligados a uma organização pública ou privada, do País ou do exterior, que se integrem em um projeto ou em qualquer iniciativa do Núcleo como pesquisadores ou colaboradores.

§.5°. Os membros permanentes, representantes, associados e correspondentes, deverão ser propostos por pelo menos dois membros permanentes e ter seus nomes aprovados em reunião do Conselho Permanente.

CAPÍTULO III

DA COMPETÊNCIA

Seção I

Dos Recursos Humanos

- Art. 7°. Compete aos membros do Núcleo de pesquisa em biotecnologia aplicada:
 - I Observar e cumprir o estabelecido neste Regulamento e nas normas internas do Núcleo, bem como o disposto no Estatuto e Regimento Geral da Universidade Estadual de Maringá e outras normas e determinações superiores;
 - II Zelar pelo material científico, dados, equipamentos, acervo bibliográfico e outros bens patrimoniais vinculados ao Núcleo;
 - III Participar das reuniões convocadas no âmbito do Núcleo;
 - IV Executar as atividades que lhe são atribuídas, compatíveis com o seu cargo;
 - V Citar, em todas as comunicações e trabalhos resultantes de suas pesquisas, seu vínculo com o Núcleo.

Seção II

Do Conselho Permanente

- Art. 8°. O Conselho Permanente será composto pelos membros permanentes e a ele compete:
 - I escolher o coordenador geral do Núcleo;
 - II supervisionar e aprovar as atividades propostas pelo coordenador geral e pelo Conselho Técnico;
 - III propor e aprovar diretrizes gerais de ações a serem desenvolvidas pelo Núcleo.
 - Parágrafo único. Será também de atribuição do Conselho Permanente a aprovação de novos membros em qualquer categoria.

Seção III

Do Coordenador Geral

Art.10°. Ao coordenador geral do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia Aplicada compete:

- I administrar e representar o Núcleo;
- II supervisionar, coordenar e orientar as atividades do Núcleo;
- III prever, solicitar e gerir os recursos necessários ao bom desempenho das atividades do Núcleo:
- IV convocar e presidir reuniões do Núcleo;
- V manter o Núcleo ligado com órgãos e instituições afins;
- VI elaborar e apresentar aos órgãos competentes o plano e o relatório anual de atividades;
- VII cumprir e fazer cumprir o presente regulamento;
- VIII outras atividades correlatas.

Seção IV

Do Conselho Técnico-Científico

Art. 11°. O Conselho Técnico-Científico será composto pelo coordenador geral e coordenador científico e terá atribuições de aprovar o plano e o relatório anual do Núcleo, assim como aprovar, no âmbito de sua competência, acordos, convênios, projetos de pesquisa, ensino, extensão e outros propostos ao Núcleo de pesquisa em biotecnologia aplicada.

Seção V

Das Atividades de Secretaria

- Art. 12°. As Atividades de secretaria compreendem:
 - I realizar registro escrito de reuniões, eventos, cursos, planos e relatórios executados pelo Núcleo;
 - II organizar o fluxo de acesso dos professores e alunos às atividades realizadas pelo Núcleo;
 - III receber e encaminhar a correspondência recebida e expedida pelo Núcleo;
 - IV participar de reuniões convocadas pelo coordenador geral;
 - V cumprir e fazer cumprir o presente regulamento;
 - VI outras atividades correlatas.

Seção VI

Das Atividades Discentes

Art. 13°. As atividades discentes compreendem a participação nas atividades desenvolvidas pelo Núcleo de pesquisa em biotecnologia aplicada.

Parágrafo único. A seleção, a regulamentação e a certificação das atividades discentes serão deliberadas pelo Conselho Técnico.

CAPÍTULO IV

DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

Art. 14°. Os casos omissos neste regulamento serão resolvidos pelo coordenador geral do Núcleo de pesquisa em biotecnologia aplicada, ouvido o Conselho Permanente.

Infraestrutura e Outras Dependências

As principais unidades de pesquisa equipadas para o desenvolvimento dos experimentos propostos nos diversos projetos, pertencentes a Universidade Estadual de Maringá, disponibilizada para o Núcleo serão:

Centro Técnico de Irrigação - CTI; 16 ha; 11 funcionários;

Fazenda Experimental Iguatemi - FEI; 168 ha; 70 funcionários;

Estação Experimental do Câmpus de Cidade Gaúcha;

2 Casas de Vegetação;

Laboratório de Diagnose por Biologia Molecular (sendo implantado no CTI);

Laboratório de Fitopatologia.