

Del genoma al ingenio

El programa Bioen genera avances en el conocimiento sobre la caña de azúcar y los biocombustibles

Fabrcio Marques

Pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) e da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) desvendaram em 2011 cerca de 10,8 bilhões de pares de bases do DNA da cana, 33 vezes o produto dos dois anos do projeto Genoma Cana, encerrado em 2001, que mapeou os genes expressos da planta. O resultado faz parte de um projeto temático, coordenado pela bióloga molecular Glaucia Souza, da USP, e com conclusão prevista para 2013, que busca o sequenciamento dos genes da cana-de-açúcar. Dada a complexidade do genoma, 300 regiões já estão organizadas em trechos maiores que 100 mil bases, que contêm de 5 a 14 genes contíguos de cana, em um projeto temático da geneticista Marie-Anne Van Sluys, também professora da USP. Os pesquisadores querem ir além do Genoma Cana, tanto na quantidade de dados como nas perguntas sobre como funciona o genoma da planta que se tornou sinônimo de energia de fonte renovável. Estudos de gramíneas como sorgo e arroz mostraram que para melhorar a produtividade das plantas é preciso saber como a atividade dos genes é controlada, função de trechos do DNA conhecidos como promotores.

A pesquisa é um exemplo de como o conhecimento sobre cana-de-açúcar e etanol avançou nos últimos anos. Por meio do Programa FAPESP de Pesquisa em Bioenergia (Bioen), iniciado em 2008, do qual Glaucia Souza é coordenadora, a Fundação vem patrocinando um grande esforço de investigação, que articula pesquisadores de várias áreas do conhecimento, para aprimorar a produtividade do etanol brasileiro e avançar em ciência básica e tecnologia relacionadas à geração de energia de biomassa.

Um dos objetivos do Bioen é superar entraves tecnológicos e ampliar ainda mais a produtividade do etanol de primeira geração, feito a partir da fermentação da sacarose, que aproveita um terço da biomassa da cana. Outro mote é participar da corrida internacional em busca do etanol de segunda geração, produzido a partir de celulose – o que tornaria possível obter o biocombustível também do bagaço e da palha da cana e de diversas outras matérias-primas. O programa tem cinco vertentes. Uma delas é o de pesquisa sobre biomassa, com foco no melhoramento da cana. A segunda é o processo de fabricação de biocombustíveis. A terceira está vinculada a

Una plantación de caña de azúcar en Lins, interior paulista: productividad creciente





La expansión de los biocombustibles en Latinoamérica no compromete la producción de alimentos

Zafra manual en Cordeirópolis (São Paulo), en 2010: los estudios apuntan a conocer y mitigar los impactos económicos y sociales

Um *software* denominado OneMap voltado para a utilização de marcadores genéticos em programas de melhoramento, explorando a genética e a fisiologia da cana, foi desenvolvido por Augusto Garcia, da Escola Superior de Agricultura

Luiz de Queiroz (Esalq), da USP. “Essa é uma das grandes expectativas de obtenção de cultivares mais rapidamente”, diz Glauçia Souza. A cada ano, o Centro de Tecnologia Canaveira (CTC) testa 1 milhão de mudas em busca de plantas mais produtivas. Demora 12 anos para que surjam duas ou três variedades promissoras.

“PLANTA ENERGIA”

A produtividade atual da cana, que é de 80 toneladas por hectare/ano em média, poderia alcançar 381 toneladas por hectare/ano, com o desenvolvimento de variedades talhadas para a produção

de bioenergia, dotadas, por exemplo, de alta produtividade, alto conteúdo de açúcar, tolerância à seca e resistência a pestes e doenças. Esse cálculo foi publicado num artigo científico de autoria de um grupo de pesquisadores do Bioen e do Centro de Pesquisa em Agricultura do Havaí. Segundo o estudo, a chamada “planta energia” precisa de crescimento rápido, necessidade reduzida de insumos para o crescimento e ser adaptada para a colheita mecanizada. Para fazer esse inédito cálculo teórico, o estudo associou dados tecnológicos de produção da cana com informações sobre a fisiologia da planta (fotossíntese, crescimento, desenvolvimento e maturação da cana) e propôs, através de estudos de genômica funcional, possíveis genes alvos para o melhoramento envolvendo a partição de carbono, que é a maneira como a cana distribui os carboidratos que produz via fotossíntese.

Publicado na *Plant Biotechnology Journal* em abril de 2010, o estudo mostrou quanto a cana poderia render com o uso de ferramentas biotecnológicas para

aplicações do etanol para motores automotivos e de aviação. A quarta é ligada a estudos sobre biorrefinarias, biologia sintética, sucroquímica e alcoolquímica. E a quinta trata dos impactos sociais e ambientais do uso de biocombustíveis.

GENÉTICA

Em quase quatro anos de existência, os resultados do programa Bioen são palpáveis e variados. A experiência em genômica de Marie-Anne Van Sluys, da USP, e de Anete Pereira de Souza, da Unicamp, levou-as à liderança de projetos cujo objetivo é gerar um sequenciamento parcial de dois cultivares de cana (R570 e SP80-3280) e subsidiar o desenvolvimento de ferramentas moleculares capazes de auxiliar na compreensão deste genoma. Um dos alvos é o estudo dos chamados elementos de transposição, regiões de DNA que podem se transferir de uma região para outra do genoma, deixando ou não uma cópia no local antigo onde estavam. “Programas de melhoramento também poderão ser beneficiados tendo acesso a

informações moleculares com potencial para o desenvolvimento de marcadores”, diz Marie-Anne, que é professora do Instituto de Biociências da USP e uma das coordenadoras do Bioen.

Um projeto liderado por Ricardo Zorzetto Vêncio, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da USP, desenvolveu a versão-piloto de um *software* para tentar caracterizar as funções de genes da cana-de-açúcar. A abordagem é inovadora, porque não se limita a atribuir a uma sequência de genes de um organismo as funções já observadas numa sequência semelhante de outro ser vivo. A ideia é utilizar algoritmos que contemplem a incerteza contida nessa associação. “Em vez de simplesmente dizer que um gene tem uma função específica, queremos dizer qual é a probabilidade de ele ter essa função e, neste cálculo, levar em conta diferentes evidências como a relação evolutiva com outros genes ou se tem algum experimento que confirma a função”, diz Ricardo Vêncio.

criar novas variedades. Uma carta enviada aos autores pelo editor da revista, o biólogo Keith J. Edwards, da Universidade de Bristol, Inglaterra, informou que já haviam sido registrados mais de 1,6 mil *downloads* do artigo, número elevado para uma revista de interesse especializado. O interesse no artigo é revelador de um novo patamar da pesquisa sobre cana-de-açúcar, observa Glaucia Souza, autora principal do artigo, que é professora do Instituto de Química da USP. “Há alguns anos tínhamos dificuldade de publicar artigos sobre biotecnologia da cana, porque se considerava que era uma planta exótica que só dá nos semitropicais. Hoje, como muitos países buscam desenvolver energia extraída de biomassa, os estudos da cana vêm ganhando importância”, afirma. A popularidade do artigo também mostra como o Programa Bioen está avançando no campo do melhoramento genético. “Estamos conseguindo trazer o genoma para o campo”, diz.

O Brasil tem uma posição especial no debate internacional sobre biocombustíveis, pois é o único país que realizou a substituição em larga escala da gasolina por etanol. A experiência brasileira e os estudos no campo da bioenergia realizados

3% é o ganho anual de produtividade do etanol brasileiro nas últimas quatro décadas

60% de la producción nacional de etanol proviene del estado de São Paulo

por instituições do estado habilitaram pesquisadores paulistas a participar do projeto Global Sustainable Bionergy (GSB), iniciativa internacional para discutir a viabilidade da produção de biocombustíveis em larga escala e em nível mundial e buscar um consenso científico sobre o assunto. O GSB promoveu encontros entre cientistas do setor energético em cinco países. A intenção foi discutir se é possível suprir uma fração substancial da demanda energética a partir da produção de biomassa, sem comprometer o fornecimento de alimentos, a preservação de habitats naturais e a qualidade do meio ambiente, além de propor estratégias para a transição rumo a uma nova matriz energética, mais equilibrada e renovável. O *workshop* da América Latina foi organizado pela FAPESP, em março de 2010, e discutiu os desafios tecnológicos para obter etanol a partir de celulose a custos competitivos, a possibilidade de replicar em outros países o bem-sucedido caso do etanol de cana brasileiro e o temor de que a concorrência dos biocombustíveis comprometa outras culturas agrícolas. A resolução aprovada no encontro afirmou

Un cañamellar de Guairá (São Paulo): la producción de biocombustibles puede ampliar la rentabilidad del agronegocio



enfaticamente o potencial de expansão da produção de bioenergia na América Latina, sem que isso comprometa a produção de alimentos, o meio ambiente e a biodiversidade. O coordenador do Projeto GSB, Lee Lynd, da Thayer School of Engineering, Dartmouth College, nos Estados Unidos, fez elogios à disposição dos pesquisadores brasileiros de buscar formas sustentáveis para produzir biocombustíveis. “Outros países deveriam enfrentar o problema como o Brasil está fazendo. Os Estados Unidos, por exemplo, são mais defensivos em relação aos mecanismos de sustentabilidade, embora liderem a produção de etanol”, afirmou na época.

COMBUSTÍVEL PARA AVIAÇÃO

Entre as ambições do programa, um dos destaques é o desenvolvimento de biocombustíveis para aviação. Em abril passado, representantes da FAPESP, Boeing e Embraer iniciaram um estudo sobre os principais desafios científicos, tecnológicos, sociais e econômicos para o desenvolvimento e adoção de biocombustível pelo setor de aviação comercial e executiva no Brasil. Com duração prevista de nove a 12 meses, o estudo será orientado por uma série de oito *workshops* programados para este ano, a fim de coletar dados com pesquisadores e

integrantes da cadeia de produção de biocombustíveis, além de representantes do setor de aviação e do governo. Após a conclusão do estudo, a FAPESP, Boeing e Embraer realizarão um projeto de pesquisa conjunto sobre os temas prioritários apontados no levantamento e lançarão uma chamada de propostas para estabelecer um centro de pesquisa e desenvolvimento de biocombustíveis para aviação comercial envolvendo as três instituições, baseado no modelo dos Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão (Cepids) da FAPESP, voltados para desenvolver pesquisas na fronteira do conhecimento. O projeto de pesquisa faz parte de um acordo entre as instituições, assinado em outubro de 2011, no âmbito do Bioen, coordenado por Luís Augusto Barbosa Cortez, professor da Unicamp e coordenador-adjunto de Programas Especiais da FAPESP.

Um processo inovador para a produção de bioquerosene a partir de vários tipos de óleo vegetal, que poderá tornar o combustível usado em aviões menos poluente e mais barato, já foi desenvolvido na Faculdade de Engenharia Química (FEQ) da Unicamp. Após sua extração e refino, o óleo é colocado em um reator junto com uma quantidade específica de etanol e um catalisador,

responsável por acelerar as reações químicas. “A maior contribuição do processo de obtenção do bioquerosene são os altos índices de pureza do produto final”, diz Rubens Maciel Filho, professor da FEQ e coordenador do estudo. Essa rota possibilita a obtenção de biocombustíveis de aviação oxigenados com ponto de congelamento que permitem seu uso como *jet fuel*. Outro processo possibilita a produção de bioquerosene do tipo hidrocarbonetos com pedido de patente internacional já solicitada e protocolada. Uma outra contribuição de Maciel é um projeto que busca criar compostos de alto valor econômico a partir de subprodutos da cana. O projeto vem obtendo bons resultados na produção do ácido acrílico e do ácido propiônico a partir do ácido láctico. “É possível desenvolver produtos com valores 190 mil vezes maiores do que o do açúcar”, diz Maciel.

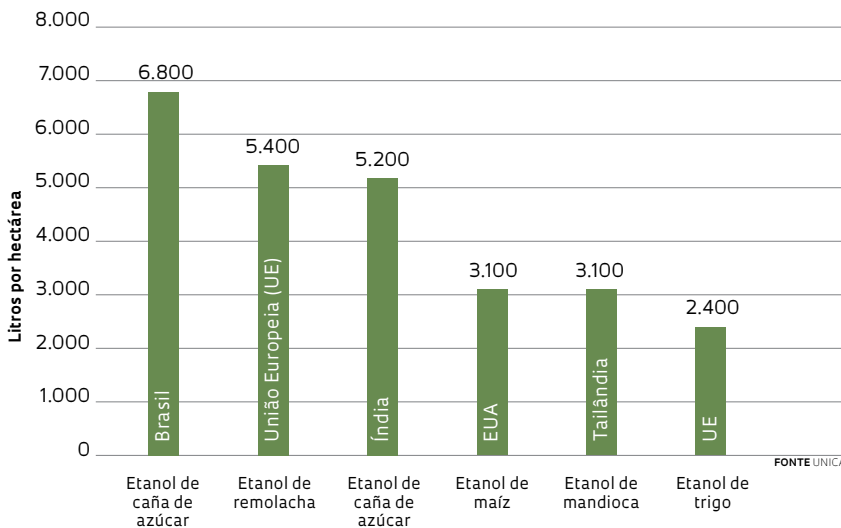
IMPACTOS ECONÔMICOS E SOCIAIS

O Bioen busca mensurar os impactos sociais e econômicos de uma sociedade baseada em energia de biomassa. “Temos grupos de pesquisadores estudando modelos econômicos capazes de avaliar as mudanças de uso da terra causadas pela produção em larga escala de biocombustíveis”, diz Gláucia Souza. “Também há estudos sobre os gargalos econômicos da produção de biocombustíveis, mapeamentos agroecológicos e impacto na biodiversidade, para citar alguns exemplos”, afirma a professora. Conhecimento novo à parte, Gláucia destaca o potencial dos biocombustíveis no combate à pobreza. “A cana-de-açúcar contribui para o desenvolvimento rural, mas a agricultura ainda reverte pouco lucro para os produtores. A produção de biocombustíveis pode agregar valor ao agronegócio, permitindo, por exemplo, que o setor gere sua própria energia e venda o excedente, contribuindo para o desenvolvimento regional e o combate à pobreza”, diz.

No exterior, questiona-se o fato de o Brasil ser forte na agricultura voltada à alimentação e substituir terra boa da produção de alimentos para plantio de cana. Trata-se de um problema inexistente, segundo estudo do grupo liderado pelo economista André Nassar, do Instituto de Estudos do Comércio e Negociações Internacionais (Icône), financiado pela FAPESP dentro do Bioen. Em 2022, no

La productividad del etanol

El biocombustible brasileño presenta un rendimiento mayor





Una montaña de bagazo de caña en Usina Costa Pinto, en la localidad de Piracicaba (São Paulo): la extracción de etanol de celulosa podrá multiplicar la producción del combustible brasileño

cenário traçado pelo instituto, a área de lavoura de cana deve ocupar 10,5 milhões de hectares, ante 8,1 milhões de hectares em 2009. O crescimento de 30% no canavial deve se dar na região Sudeste, principalmente em áreas de pastagem de criação de gado bovino, e na região Centro-Oeste, onde deve substituir áreas tradicionais de plantio de grãos e de pastos. “Hoje, os pecuaristas produzem mais carne por hectare. Em 1996, foram produzidas 6 milhões de toneladas de carne, em 184 milhões de hectares. Dez anos depois, a produção somou 9 milhões de toneladas de carne, em 183 milhões de hectares. O rebanho, no período, saltou de 158 milhões para 206 milhões”, diz a pesquisadora Leila Harfuch, do Icone. “As pastagens entre 2009 e 2022 devem cair cerca de 5 milhões de hectares, acomodando parte da expansão de grãos e cana.”

MUDANÇAS CLIMÁTICAS

Há estudos cujo foco é a forma como a cana-de-açúcar irá responder às mudanças climáticas. Esse conhecimento poderá ajudar a desenvolver variedades mais resistentes a eventuais aumentos de chuva e de calor, além do esperado avanço de pragas. Já é sabido que a alta concentração de gás carbônico produz um aumento na fotossíntese e no volume de biomassa, o que faz antever um

avanço da produtividade. “Em contrapartida, pouco se sabe sobre os mecanismos de controle hormonais, suas relações com o metabolismo de carbono e as redes de transcrição gênica a ele associados”, diz Marcos Buckeridge, professor do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da USP e diretor científico do Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE). “O conhecimento de tais processos tem o potencial de expor quais os pontos do metabolismo da cana poderiam ser alterados para produzir variedades com potencial de adaptação às mudanças climáticas”, afirma Buckeridge. A busca de fontes para a produção de biocombustíveis que não comprometam a natureza, como, por exemplo, a obtenção de etanol a partir de polissacarídeos de sementes de árvores nativas cultivadas em meio a plantações de cana, também é alvo de investigação. “Sistemas agroflorestais podem representar um novo modelo capaz de aumentar a produção de energia renovável, de uma forma harmônica e com benefícios sociais, além de impacto ambiental mínimo”, afirma Buckeridge.

El bagazo se quema para generar la energía de las centrales y se lo emplea en la producción de alimentos para animales

ETANOL DE CELULOSE

Apenas a sacarose, responsável por um terço da biomassa da cana, é aproveitada para a produção de açúcar e álcool combustível. É certo que o Brasil utiliza o bagaço da cana na geração de energia nas usinas ou na produção de alimento para animais, o que foi responsável por um notável ganho de eficiência. O grande desafio é converter em etanol também a celulose, que está no bagaço e na palha da cana – processos de hidrólise enzimática ou físico-química permitiriam que as unidades de carbono da celulose e da hemicelulose fossem também fermentadas. O domínio das tecnologias de utilização da celulose está no centro da corrida mundial pela produção de energia a partir de fontes renováveis. Hoje esse processo ainda não é viável economicamente. Se os pesquisadores

encontrarem formas de reduzir custos, o uso da celulose da cana poderia ampliar dramaticamente a produção de etanol.

Na busca do etanol de celulose, um dos destaques é um projeto que avalia como é possível romper a resistência das paredes celulares de vegetais lignificados, como a cana, por meio de hidrólise enzimática. A lignina é uma macromolécula encontrada em plantas, associada à celulose na parede celular, cuja função é conferir rigidez e resistência. Quebrá-la é um desafio para obter etanol de celulose. “Para entender como a remoção de lignina pode diminuir a recalcitrância das paredes celulares, têm sido avaliados, além de variedades comerciais, híbridos de cana com teores contrastantes de lignina”, diz Adriane Milagres, professora da Escola de Engenharia de Lorena, da USP, uma das coordenadoras do projeto. “Quando materiais são tratados com métodos seletivos, a remoção de 50% da lignina original já eleva o nível de conversão da celulose para 85%/90%.” Segundo Adriane, o avanço do projeto também está direcionado para avaliar quais são os coquetéis enzimáticos mais apropriados para obter um nível de hidrólise enzimática elevado usando bagaço de cana que tenha sido pré-tratado com a menor severidade possível. “Isso porque os teores iniciais de lignina das plantas selecionadas já são baixos”, explica.

PRIMEIRA GERAÇÃO

O Brasil detém vantagens acentuadas na produção de etanol de primeira geração, feito a partir da fermentação da sacarose. A produtividade da cana-de-açúcar aumentou muito nos últimos 30 anos, a uma taxa média de cerca de 4% ao ano. Essa produtividade pode crescer ainda mais se alguns desafios tecnológicos forem superados. Um projeto realizado por pesquisadores da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP), em colaboração com grupos de pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e da Delft University of Technology, da Holanda, demonstrou que existe

uma margem para avançar por meio do melhoramento genético dos microrganismos utilizados no processo convencional de produção industrial do biocombustível por fermentação, em que leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* convertem a sacarose (o açúcar) em etanol.

Por meio de estratégias de engenharia metabólica, o grupo conseguiu, em escala de bancada, aumentar em 11% o rendimento da produção de etanol sobre a sacarose utilizando uma levedura geneticamente modificada. “Esse experimento ainda não foi testado em ambiente industrial. Mas, levando-se em conta o grande volume da produção atual, um aumento de apenas 3% no rendimento da fermentação alcoólica permitiria hoje um incremento de 1 bilhão de litros de etanol por ano, só no Brasil, a partir da mesma quantidade de cana-de-açúcar. O que já seria um ganho extraordinário”, diz Andreas Karoly

Gombert, professor da Escola Politécnica da USP e coordenador do projeto. O projeto surgiu a partir de uma iniciativa do professor Boris Ugarte Stambuk, da UFSC, que desenvolveu em laboratório e patenteou uma estratégia de engenharia metabólica que altera a topologia e a energética do metabolismo de sacarose na levedura *Sacchromyces cerevisiae*.

INTERAÇÃO COM SETOR PRIVADO

Um salto no interesse pela pesquisa em cana e etanol aconteceu em abril de 1999, com o advento do Genoma Cana, que mapeou 250 mil fragmentos de genes funcionais da cana (*ver reportagem à página 54*) e se caracterizou pela interação com o setor privado. Após o encerramento do programa, o interesse das empresas pela pesquisa em bioenergia não arrefeceu. Em 2006, a FAPESP, em parceria com o BNDES, firmou um convênio com a Oxiteno, do grupo UL-



Las calderas de Usina Santa Elisa, en Sertãozinho (São Paulo): la producción de energía eléctrica se efectúa con bagazo de caña

tra, para o desenvolvimento de projetos cooperativos em que se investiga desde o processo de hidrólise enzimática do bagaço da cana para a obtenção de açúcares até a produção de etanol de celulose. No ano seguinte, a Dedini Indústrias de Base celebrou convênio com a FAPESP para financiar projetos sobre técnicas de conversão do bagaço de cana em etanol. No início de 2008, a FAPESP e a Braskem também firmaram um convênio para o desenvolvimento de biopolímeros.

A crescente importância econômica da cana ajudou a impulsionar o interesse dos pesquisadores. O Brasil colheu 569 milhões de toneladas de cana na safra de 2009 – quase o dobro da colheita de 1999, segundo dados da União da Indústria de Cana-de-Açúcar (Unica). Metade da produção foi transformada em etanol – o equivalente a 27 bilhões de litros –, o que coloca o Brasil como o segundo maior produtor mundial do

combustível. O primeiro lugar cabe aos Estados Unidos, que extraem etanol do milho a poder de pesados subsídios. São Paulo respondeu por 60% da produção nacional. O ganho de produtividade tem sido maior do que 3% ao ano nos últimos 40 anos, resultado de melhoramento genético da cana. O etanol fez do Brasil um exemplo único de país que substituiu o uso de gasolina em grande escala. No estado de São Paulo, 56% da energia vem de fontes renováveis, sendo 38% da cana.

Um desdobramento do Bioen foi a criação, em 2010, do Centro Paulista de Pesquisa em Bioenergia (CPPB). Trata-se de um esforço para estimular a pesquisa interdisciplinar e ampliar o contingente de pesquisadores envolvidos com o tema, liderado pela FAPESP, o governo do estado de São Paulo e as três universidades estaduais paulistas. Segundo o acordo, o governo

estadual já investiu e investirá recursos para criação de infraestrutura de pesquisa na USP, Unicamp e Unesp. As universidades, por sua vez, contratarão docentes e pesquisadores, cabendo à FAPESP o investimento no financiamento à pesquisa. A USP criou o Núcleo de Pesquisas de Bioenergia e Sustentabilidade (NAPBS); a Unicamp, o Laboratório de Bioenergia (Labioen); e a Unesp, o Núcleo de Pesquisa em Bioenergia (Bioen-Unesp). “Com os recursos liberados pelo governo estadual em 2010 e 2011, as três universidades já estão construindo a infraestrutura nos seus respectivos *campi*. O processo de contratação de novos docentes e pesquisadores também se encontra adiantado”, diz Luis Cortez, professor da Unicamp e coordenador do centro. Outra iniciativa ligada ao CPPB é o Centro de Biologia Sintética e Sistemática da Biomassa, na USP, idealizado em 2008 por Gláucia Souza, Marie-Anne Van Sluys e Marcos Buckeridge. Esse centro vai reunir pesquisadores dos institutos de Química, de Matemática e Estatística, de Biociências, de Ciências Biomédicas e da Escola Politécnica. A biologia sintética combina biologia e engenharia para construir novas funções e sistemas biológicos. “A intenção é investir numa área em que o Brasil ainda não tem grande expertise e envolver pesquisadores de várias disciplinas”, diz Gláucia Souza. ■



Los números del Programa Bioen

49 proyectos de investigación en marcha
11 proyectos de investigación concluidos
Concesión total: R\$ 64.170.267,56
108 becas en el país en concesión
102 becas en el país ya concedidas
Concesión total: R\$ 14.008.313,89

Artículos científicos

1. WACLAWOVSKY, A. J. *et al.* Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. *Plant Biotechnology Journal*. v. 8, 263-76. Publicado *online* 19 feb. 2010.
2. BASSO, T. O. *et al.* Engineering topology and kinetics of sucrose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* for improved ethanol yield. *Metabolic Engineering*. v. 13, 694-703, 2011.

De nuestro archivo

Sertãozinho, una central de innovaciones, Edición nº 128 – octubre de 2006; *Las vías para avanzar como líderes en etanol*, Edición nº 149 – julio de 2008; *Un variado menú energético*, Edición nº 157 – marzo de 2009; *El objetivo es el bagazo*, Edición nº 163 – septiembre de 2009; *La energía del futuro*, Edición nº 170 – abril de 2010; *Cálculo original*, Edición nº 184 – junio de 2011; *Biorrefinerías del futuro*, Edición nº 192 – febrero de 2012.