

## **PLANO DE ATIVIDADES 2016**

## PLANO DE ATIVIDADES 2016

Produzido por:  
Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo - CEBAL  
Rua Pedro Soares, Apartado 6158 7801-908 Beja  
<http://www.cebal.pt/>

Maio de 2016

### INDÍCE

<b>1. Introdução</b>	3
<i>1.1 Linhas Orientadoras dos Grupos de Investigação</i>	2
<b>2. Novos Recursos</b>	5
<b>3. Estratégia de Comunicação</b>	5
<b>4. Divulgação Ciência</b>	5
<b>5. Atividades de Investigação</b>	5
<i>5.1 Listagem de Projetos Aprovados Alentejo 2020</i>	8
<i>5.2 Compostos Bioativos</i>	8
<i>5.3 Genómica Agronómica</i>	11
<i>5.4 Genómica Animal e Bioinformática</i>	14
<i>5.5 Valorização de Agro-Alimentos</i>	16
<i>5.6 Engenharia de Processos</i>	20
<b>6. Unidade de Prestação de Serviços</b>	22
<b>7. Novas Candidaturas a Financiamento</b>	22
<b>8. Orçamento Financeiro Previsional</b>	

## **1. Introdução**

O CEBAL tem vindo a assumir-se como uma iniciativa de investimento no desenvolvimento sustentável a médio e longo prazo, baseada no uso dos recursos naturais como fundações para um crescimento económico durável e socialmente equilibrado. O CEBAL pretende desenvolver processos químicos e biológicos que permitam uma abordagem integrada à produção agro-pecuária, agro-alimentar e agro-florestal associada, à conservação de um ambiente de elevada qualidade, à valorização de matérias-primas e resíduos, e à produção, conservação e gestão das energias alternativas. A valorização dos recursos endógenos da região é uma das fortes linhas de trabalho, como aposta para o desenvolvimento de novas oportunidades de negócio, com valor acrescentado no sector agrícola. No decorrer das suas atividades de I&DT, O CEBAL pretende manter as existentes colaborações diretas com vários parceiros do sistema de I&DT nacional, instituições internacionais, bem como com empresas e outros agentes económicos de relevo para o trabalho a desenvolver.

### **1.1 Linhas orientadoras dos grupos de investigação**

#### **1.1.1 Genómica Agronómica**

O grupo de Genómica Agronómica incide a sua atividade de investigação no estudo de mecanismos moleculares relacionados com processos de desenvolvimento vegetal, pesquisa de novos genes e desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas para a identificação/produção de novas variedades com características de interesse agronómico. O principal alvo da investigação em curso incide sobre fatores de transcrição, nomeadamente como regulam diferentes processos do desenvolvimento e metabolismo vegetal. O grupo tem em curso 2 linhas de investigação:

1. Formação da cortiça em sobreiro (*Quercus suber*);
2. Identificação/Produção de plantas de cardo (*Cynara cardunculus*) com produção aumentada de compostos do metabolismo secundário.

#### **1.1.2 Genómica Animal e Bioinformática**

O grupo de Genómica Animal e Bioinformática tem como objetivo principal as áreas de genética, genómica e melhoramento animal, com ênfase nas raças autóctones nacionais. Em paralelo, através de linhas de investigação no âmbito da genómica e bioinformática, o grupo continuará a desenvolver trabalho em espécies florestais e agrícolas, com destaque para o sobreiro e pinheiro manso, bem como o trigo.

#### **1.1.3 Compostos Bioativos**

O grupo dos Compostos Bioativos tem a sua atividade de investigação centrada na caracterização de extratos naturais, ou compostos puros, e no subsequente estudo da sua atividade biológica. O grupo comporta três linhas de investigação:

1. Obtenção e caracterização fitoquímica de extratáveis resultantes de diferentes tipos de biomassa, com vista à recuperação e isolamento de compostos de valor acrescentado;
2. Desenvolvimento de processos extrativos e/ou purificação para obtenção de compostos/frações de

interesse;

3. Estudo do potencial biológico de diferentes matrizes naturais.

#### 1.1.4 Engenharia de Processos

O Grupo de Engenharia de Processos tem vindo a desenvolver trabalho na área dos processos de separação com membranas, aplicados à separação seletiva de compostos bioativos e/ou de valor acrescentado, presentes em resíduos e sub-produtos agro-industriais. O grupo tem em curso três linhas de investigação:

1. Conversão de biomassa lenho-celulósica em bioetanol e outros produtos de valor acrescentado;
2. Recuperação de compostos de valor acrescentado provenientes de queijarias e desenvolvimento/produção de revestimentos de queijos;
3. Tratamento de Efluentes e Recuperação de Água por Tecnologia de Membranas

#### 1.1.5 Valorização de Agro-Alimentos

O grupo de Valorização de Agro-Alimentos desenvolve o seu trabalho de investigação em matrizes alimentares de natureza tradicional e importância económica regional, quer de origem vegetal quer de origem animal, procedendo à sua caracterização nas vertentes físico-química, microbiológica e sensorial, e propondo melhorias de processos e produtos motivados pela satisfação do consumidor, valor nutricional e a redução do impacto ambiental. As duas principais linhas de intervenção consubstanciam-se em:

1. Caracterização e melhoramento de produtos de origem vegetal;
2. Caracterização e melhoramento de produtos de origem animal.

A descrição detalhada das atividades de investigação a desenvolver em 2016 por cada grupo de investigação podem ser consultadas no ponto 4 deste Plano de Atividades.

#### 1.1.6 Indicadores Previstos

	Artigos Científicos (com arbitragem internacional)	Artigos técnicos (circulação nacional)	Capítulo de Livro	Comunicações Orais em Congressos (nacionais e internacionais)	Comunicações em formato poster (nacionais e internacionais)	Teses de Doutoramento	Teses de Mestrado/ Monografias
	2016	2016	2016	2016	2016	2016	2016
Grupo dos Compostos Bioativos	8	2	1	0	3	0	2
Grupo Engenharia de Processos	6	-	-	-	-	-	-
Grupo Genómica Agronómica	4	-	-	-	-	2	-
Grupo Valorização de Agro-Alimentos	4	1	1	1	1	-	1
Grupo Genómica Agronómica e Bioinformática	4	-	-	1	1	-	1

## **2. Novos Recursos**

### **2.1 Recursos humanos**

Face às candidaturas a bolsas individuais apresentada à FCT, no âmbito dos concursos a Doutoramento e Pós-Doutoramento, para 2016, bem como às candidaturas aprovadas, no âmbito do Programa Operacional Alentejo 2020, para 2016 prevê-se a recuperação/restabelecimento dos recursos humanos. Para além das candidaturas a bolsas FCT, o CEBAL espera receber alguns alunos de licenciatura e mestrado, de diferentes Universidades do país, como resultado de uma estratégia de angariação/formação de novos recursos humanos. Em 2016 o CEBAL receberá alunos provenientes do Instituto Superior Técnico no âmbito de estágios de verão, com duração de 8-10 semanas.

### **2.2 Recursos físicos**

No decorrer de 2016 não é expectável a mudança para as novas instalações do CEBAL. Após as intervenções realizadas no decorrer do último semestre de 2015, no âmbito da criação da Unidade de Valorização de Resíduos e Matérias-Primas de Origem Biológica e da Unidade de Valorização de Produtos Hortofrutícolas, o CEBAL apresenta, de momento, condições adequadas ao desenvolvimento das suas atividades laboratoriais.

## **3. Estratégia de Comunicação**

Em 2016, o CEBAL continuará a implementação de uma estratégia de comunicação de ciência vocacionada para a captação de fundos de apoio à investigação. Tratar-se-á de uma abordagem integrada com criação de ferramentas de gestão de ciência e tecnologia, delineamento de políticas à proteção da propriedade intelectual, aquisição e exploração do conhecimento gerado pelo CEBAL, comunicação ativa com os sócios, identificação de públicos-alvo, como potenciais investidores/utilizadores de tecnologia gerada. A presente estratégia de comunicação passará também pela divulgação (em diferentes formatos) dos resultados técnico-científicos para a comunidade escolar e sociedade civil, potenciando a penetração do CEBAL na comunidade regional/nacional. Na mesma linha de trabalho, para 2016 está previsto um estágio na área de Gestão de Empresas, dedicado especificamente à questão do marketing institucional.

### **3.1 Celebração dos 10 anos de constituição do CEBAL**

No ano em que o CEBAL celebra 10 anos da sua constituição formal, prevê-se a realização de algumas sessões de sensibilização, dirigidas para a comunidade, no sentido de dar a conhecer o que é o CEBAL, quais os projetos que têm sido desenvolvidos, o entrosamento técnico-científico para a região, entre outros aspetos de relevo.

## **4. Divulgação de Ciência**

### **4.1 Organização Simpósios e Sessões de Demonstração Tecnológica**

No primeiro semestre de 2016, e no âmbito do projeto de transferência de tecnologia TeCMem – Tecnologia de Membranas em Movimento, prevê-se a organização de uma sessão de demonstração tecnológica aplicada ao sector dos lacticínios.

No decorrer de 2016 está prevista a organização de outra sessão de demonstração tecnológica aplicada à fileira do vinho.

Em Abril de 2016, numa organização partilhada pelo CEBAL, IPBeja e ACOS organizou-se o 1º Simpósio Internacional Azeites do Sul, dedicado à fileira do azeite, com foque na produção nacional e internacional, a transferência de conhecimento e as novas aplicações do azeite.



te mem

Contatos:  
Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo (CEBAL)  
Rua Pedro Soares, Apartado 6158  
7801-908 Beja  
Tel: + 351 284 314399  
Email: [tecmem@cebal.pt](mailto:tecmem@cebal.pt)  
[www.cebal.pt](http://www.cebal.pt)



Para além destas iniciativas de divulgação de ciência, os investigadores do CEBAL participarão em congressos nacionais e internacionais para divulgação dos resultados obtidos nas diferentes linhas de investigação.

#### 4.2 Conferências “Um dia Com ...”

Em 2016 o CEBAL continuará com a série de conferências “Um dia com...”. À semelhança dos anos anteriores, com uma periodicidade mensal esta iniciativa pretende trazer a Beja investigadores de outras instituições nas mais variadas áreas do conhecimento, mas



também empresas e entidades de desenvolvimento regional. Após a conferência decorre, dentro da disponibilidade dos convidados, uma visita aos laboratórios e conversa informal com os estudantes e investigadores, contribuindo para estreitar relações entre o CEBAL e outras entidades do sistema científico e tecnológico. Esta iniciativa é aberta ao público.

#### 4.3 Concurso de Fotografia e Desenho para públicos escolares

Por forma a sensibilizar os alunos do Alentejo, e mobilizar os seus sentidos para a capacidade de observação do meio que os rodeia e incentivá-los a desenvolver, e a valorizar, competências técnico-criativas no âmbito da fotografia e do desenho, o CEBAL vai levar a cabo um concurso de fotografia e desenho dirigido para

diferentes públicos escolares (concurso de desenho para o 1º ciclo, e concurso de fotografia para 2º e 3º ciclo). O tema em 2016 será o Olival e o Azeite.

#### 4.4 CEBAL vai às escolas

No âmbito do novo ano letivo em curso, 2015-2016, e no arranque do ano letivo 2016-2017, o CEBAL pretende dar continuidade ao programa “CEBAL vai às Escolas” dirigido para diferentes públicos escolares, com duas distintas atividades “*O CEBAL na escola*” e “*Ciência à la Carte - Cientistas de palmo e meio*”

##### 4.4.1 O CEBAL na Escola

Na atividade “*O CEBAL na Escola*”, investigadores do CEBAL deslocar-se-ão às escolas, de forma informal onde é feita uma apresentação, cujo objetivo principal é dar a conhecer as atividades de investigação do Centro junto da comunidade estudantil.

Pretende-se também com esta iniciativa alargar os horizontes dos alunos em relação a saídas profissionais de áreas mais tradicionais das ciências, motivando-os para o estudo das Ciências em geral. O público-alvo desta ação são alunos do 11º e 12º ano de escolaridade. A apresentação deverá ter a assistência aproximada (não limitativa) de 30 alunos por sessão e não deverá exceder os 60 minutos, contemplando já tempo para que haja interação entre o investigador e os alunos, nomeadamente no que respeita a mais esclarecimentos sobre o CEBAL e áreas de conhecimento científico, conversa, discussão.

O CEBAL disponibilizar-se-á sempre que lhe seja solicitado para receber, mediante marcação prévia, escolas interessadas em conhecer as atividades do centro, bem como visitar os seus laboratórios. Para o primeiro semestre de 2016 estão já agendadas algumas visitas solicitadas.

##### 4.4.2 Ciência à la Carte - Cientistas de palmo e meio.

Na atividade “*Ciência à la Carte - Cientistas de palmo e meio*”, pretende-se que alunos do 1º ciclo do ensino básico tenham uma interação com a ciência, de forma a desmistificar e descomplicar as áreas científicas. Para tal, o *Ciência à la Carte* deslocar-se-á à Escola, onde em contexto de sala desenvolverão atividades de carácter científico com os alunos, sendo previamente feita uma apresentação muito sucinta das atividades do CEBAL. As atividades poderão decorrer também no CEBAL mediante solicitação e marcação.



## 5. Atividades de Investigação

### 5.1 Listagem de Projetos Aprovados Alentejo 2020

1. *TecMeM*-Tecnologia de Membranas em Movimento. Liderado pelo CEBAL;
2. *Estimular*-Inovação e Competitividade nas Áreas Rurais. Liderado pela ADPM, participam ANJE, IPBeja, CEBAL e AABA;
3. *ValBioTecCynara*-valorização económica do cardo (*Cynara cardunculus*): variabilidade natural e suas aplicações biotecnológicas. Liderado pelo CEBAL, participam IPBeja, UÉvora, INIAV, CICECO-UAveiro, UCP, FCT-UNL;
4. *OLIVALOR*-Valorização das Variedades de Oliveira Portuguesas. Liderado pela UÉvora, participam CEBAL, INIAV, IPP;
5. *SelectEcoli*-Seleção e caracterização de estirpes de *E. coli* silvestres com tolerância acrescida a multi-inibidores derivados de processos de pré-tratamento da biomassa lenhocelulósica. Liderado pelo CEBAL em colaboração com o LNEG;
6. *HYDROREUSE*-Tratamento e reutilização de águas residuais agroindustriais utilizando um sistema hidropónico inovador com plantas de tomate. Liderado pelo CEBAL, participam IPBeja, UBI e UNEX (Espanha);
7. *Lentidev*-uma abordagem molecular à porosidade da cortiça. Liderado pelo CEBAL, participaram CICECO-UAveiro;
8. *SelectPinea*-desenvolvimento de marcadores genéticos para características de interesse em Pinheiro manso (*Pinus pinea*). Liderado pelo CEBAL, participaram ISA, INIAV e UNAC;
9. ValRuMeat - Valorização da carne de ruminantes em sistemas intensivos de produção. Liderado pelo INIAV, participam CEBAL e FMV-UL;
10. *SelectPorAl* – Seleção e melhoramento genómico de características produtivas do Porco Alentejano. Liderado pelo CEBAL, participam UÉvora, INIAV, ACPA e ANCPA;
11. FASTBREED-implementação de um programa de melhoramento de variedades de trigo com base em seleção genómica. Liderado pelo INIAV, participaram CEBAL;

### 5.2 Grupo dos Compostos Bioativos

**Investigadora Principal:** Maria de Fátima Pereira Duarte

**Membros da equipa:** Paula Parreira (Investigadora de Pós-doutoramento); Olinda Guerreiro (Aluna de Doutoramento); Ângela Guerra (Aluna de Doutoramento); Teresa Brás (Aluna de Doutoramento); Patrícia Martins (Bolsista transferência de tecnologia); Daniela Rosa (Aluna de Mestrado); Ivo Rosa (Aluno de Mestrado)

O grupo dos Compostos Bioativos tem a sua atividade de investigação centrada na caracterização de matrizes naturais, ou compostos puros, e no subsequente estudo do seu potencial biológico, dirigido maioritariamente para a atividade anti-tumoral e anti-microbiana. O grupo comporta quatro linhas de investigação:

1. Obtenção e caracterização fitoquímica de extratáveis resultantes de diferentes tipos de biomassa,

- com vista à recuperação e isolamento de compostos de valor acrescentado;
2. Estudo do potencial biológico (principalmente anti-tumoral e anti-microbiano) de diferentes frações lipofílicas, caso de estudo casca do eucalipto e folha de cardo;
  3. Desenvolvimento de soluções biotecnológicas para valorização da folha do cardo;
  4. Pesquisa de matrizes naturais com potencial preventivo do cancro do estômago, por controlo da bactéria *H.pylori*.

Esta estratégia conjunta tem permitido ao grupo dos Compostos Bioativos constituir e consolidar um processo de *screening* do potencial biológico de diferentes matérias-primas, (nomeadamente o cardo (*Cynara cardunculus*) e o azeite), bem como resíduos da indústria agroflorestal e agroalimentar (casca do eucalipto, casca da romã e bagaço de figo).

### **I. Caracterização do potencial químico e biológico de extratáveis de cardo**

Em 2016 prevê-se um reforço na caracterização das propriedades anti-tumorais, principalmente, dos extratos lipofílicos, derivados da folha do cardo. Com base na forte atividade anti-proliferativa descrita anteriormente para a fração lipofílica derivada da folha do cardo, devidamente apoiada com resultados do ciclo celular e migração celular, pretende-se compreender, do ponto vista mecanístico, o efeito anti-tumoral deste extrato, em células humanas de cancro da mama, bem como estudar o efeito deste mesmo extrato em células normais (não-tumorais). Paralelamente à atividade anti-tumoral para 2016 prevê-se a continuação do estudo da atividade anti-microbiana (coleções de microrganismos multirresistentes) de extratos derivados do cardo, e seus respetivos compostos puros.

### **II. Estudo do potencial biológico de frações lipofílicas**

Esta linha de investigação incide principalmente sobre o estudo da atividade anti-tumoral e anti-microbiana de diferentes frações lipofílicas.

Resultados do grupo evidenciam a capacidade de certas frações lipofílicas, nomeadamente as derivadas da casca do eucalipto, bem como do cardo, têm em a proliferação de células tumorais, bem como o crescimento de microrganismos multirresistentes (estirpes com impacto na saúde humana).

O nosso principal objetivo é a utilização de frações lipofílicas (particularmente ricas em ácidos triterpénicos e lactonas sisquiterpénicas, derivadas de extratos de cardo, bem como da casca do eucalipto) como potenciais modeladores da carcinogénese (colon e mama).

Em 2016 prevê-se a continuação de várias atividades nomeadamente:

1. Avaliação da proliferação, ciclo celular, apoptose, invasão e migração de células humanas de cancro da mama, e carcinoma coloretal tratadas com as frações lipofílicas enriquecidas em ácidos triterpénicos, como seja o caso do ácido ursólico, betulinio e betulónico, bem como lactonas sisquiterpénicas (cinaropicrina).

2. Estudo do efeito de frações lipofílicas e respetivos compostos puros (os mais abundantes) na regulação do ciclo celular.
3. Estudo do perfil metabolómico - avaliação mútua da resposta metabolómica de células humanas de mama e colon - epiteliais e tumorais na presença de frações lipofílicas enriquecidas em ácidos triterpénicos e/ou lactonas sisquiterpénicas. Com o presente estudo pretende-se caracterizar as alterações no metabolismo celular induzidas por estas frações, de modo a compreender melhor o seu mecanismo de ação, comparando simultaneamente a resposta metabólica de células epiteliais de tecido mamário. Os perfis metabólicos determinados por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Este trabalho será desenvolvido no âmbito da tese de doutoramento da aluna Ângela Guerra, pela Universidade de Aveiro, sob orientação da Investigadora Iola Duarte do CICECO, e Fátima Duarte.

### **III. Pesquisa de matrizes naturais com potencial preventivo do cancro do estômago, por controlo da bactéria *H.pylori*.**

O cancro gástrico é a quarta neoplasia mais comum em todo o mundo, sendo que a infeção pela bactéria *Helicobacter pylori* é o principal fator de risco para o desenvolvimento deste cancro. A erradicação desta bactéria é a estratégia mais promissora em termos de prevenção mas é, até agora, também a mais difícil, uma vez que a terapia convencional disponível (antibióticos e inibidores de bomba de protões) é ineficaz em 20% dos casos, o que se traduz em cerca de 140 milhões de pacientes em todo o mundo sem tratamento alternativo. Neste contexto, a procura de novos compostos com potencial anti-*H. pylori* que não antibióticos, nomeadamente baseada em compostos bioativos, tem ganho impacto. Assim, é proposto para 2016 dar continuidade a esta linha de investigação, estudando o potencial de matrizes naturais, sejam de cardo, eucalipto ou outras que estejam a ser utilizadas no CEBAL, como potenciais tratamentos alternativos ou coadjuvantes contra a *H. pylori*, numa perspetiva de prevenção de cancro do estômago.

Dentro das várias linhas de investigação apresentadas, o grupo dos compostos bioativos mantém colaborações com: o Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), Centro de Investigação em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CICECO) e o Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro; Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV); Instituto Ciências da Vida e da Saúde (ICVS) e o Departamento de Biologia da Universidade do Minho, Faculdade Ciência e Tecnologia, da Universidade Nova de Lisboa; o Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB), da Universidade Nova de Lisboa, Instituto Engenharia Biomédica (INEB), ICAAM/Universidade de Évora, Associação de Desenvolvimento do Património de Mértola (ADPM), Laboratório Nacional de Energia e Geologia (LNEG) e Maine Medical Center Research Institute, ME, nos USA. Internamente, as várias linhas de investigação interligam-se com as linhas de ações dos restantes grupos de investigação, tal como se reflete, nos projetos em curso.

### 5.3 Grupo de Genómica Agronómica

**Investigadora Principal:** Sónia Gonçalves

**Membros da equipa:** Tiago Capote (Estudante de Doutoramento); Ana Ferro (Estudante de Doutoramento); André Folgado (Bolseiro de Investigação)

O grupo de Genómica Agronómica tem como objetivo aprofundar o conhecimento sobre dois recursos genéticos da região do Alentejo, o sobreiro e o cardo. O Grupo incide o seu trabalho no estudo dos processos de formação e qualidade da cortiça e na pesquisa de novas formas de valorização do cardo, numa estratégia que integra a biologia molecular, a cultura *in vitro* e a genómica.

#### I. Sobreiro (*Quercus suber*)

O grupo está interessado no estudo do papel dos fatores de transcrição na regulação do processo de formação da cortiça em sobreiro (*Quercus suber*). Um dos grupos de fatores de transcrição em estudo são os R2R3MYB, nomeadamente o MYB1, previamente identificado como um gene regulatório candidato na formação da cortiça e tem vindo a ser estudado no grupo. Para além deste trabalho, em 2016 será iniciada outra linha de trabalho com foco em outros fatores de transcrição também envolvidos neste processo.

##### I.1) Análise funcional do fator de transcrição MYB1 de *Quercus suber*

Para a análise funcional do gene MYB1 estão a ser realizados estudos em duas espécies: o sobreiro e o choupo, como planta modelo. No que diz respeito aos ensaios em choupo, estão já disponíveis plantas de choupo com sobre-expressão do gene MYB1 de sobreiro, com confirmação do nível de expressão do transgene MYB1. Atualmente em fase de aclimação, a análise destas plantas será realizada por comparação com as plantas selvagens, a vários níveis:

- análise química (conteúdo em lenhina e suberina)
- análise ultra-estrutural (análise da periderme)
- transcriptómica, com especial interesse em genes envolvidos nos processos de biossíntese de lenhina e suberina – em curso
- ensaios de stress abiótico *in vitro* (em curso) e *ex-vitro*

Em sobreiro, estão disponíveis embriões somáticos de sobreiro com sobre-expressão do gene MYB1, com o nível de expressão confirmado por real-time PCR. A análise do transcriptoma destas plantas está já em curso, para compreender as alterações a nível da expressão génica causadas pela introdução do gene MYB1. Em 2016, os resultados da sequenciação serão analisados e publicados.

##### I.2) Análise funcional dos fatores de transcrição relacionados com atividade meristemática

Em 2016, será dada continuação à execução do Projeto LentiDev focado em fatores de transcrição identificados como importantes para a atividade meristemática. O trabalho envolverá a produção de plantas

de choupo transgênicas para a análise funcional dos referidos fatores de transcrição em processos relacionados com a formação da cortiça.

### **I.3) Identificação dos genes-alvo do fator de transcrição QsMYB1**

Este trabalho está a ser concluído no âmbito do trabalho de doutoramento do estudante Tiago Capote em colaboração com o Instituto Superior de Agronomia (Professora Leonor Morais-Cecílio). No ano de 2016, o aluno estará principalmente a escrever a tese e publicar os resultados.

### **I.4) Sequenciação do genoma do sobreiro**

Em 2016 o projeto GenoSuber, cujo objetivo principal consiste na sequenciação total do genoma do sobreiro (*Quercus suber* L.), será finalizado.

### **I.5) Estabelecimento de um campo experimental de sobreiro**

No âmbito do projeto Genosuber está a ser desenvolvida uma população de sobreiro, denominada população F1. Para este efeito, foram realizadas polinizações controladas entre sobreiros caracterizados quanto à produção de cortiça e respetiva qualidade. Neste momento, as bolotas encontram-se em fase de germinação, e durante o ano de 2016 será necessário transplantar os sobreiros para um local definitivo. Esta população F1 é um recurso genético de valor indiscutível e será a base para futuros trabalhos em sobreiro.

## **II. Cardo (*Cynara cardunculus*)**

O grupo desenvolve também trabalhos de investigação relacionados com o metabolismo secundário, incidindo na regulação das vias metabólicas dos compostos fenólicos e terpênicos em cardo, uma vez que diversos trabalhos têm mostrado esta espécie como uma fonte interessante de compostos com atividade biológica. O objetivo é desenvolver e aplicar ferramentas moleculares e de cultura *in vitro* para a identificação/produção de plantas de cardo com um maior conteúdo em metabolitos secundários com marcada atividade biológica. A estratégia consiste em ter como alvo 2 vias do metabolismo secundário, a via dos fenilpropanóides e a via dos triterpenóides, que dão origem a muitos compostos secundários com atividade biológica (ex: anti-tumoral). As plantas/variedades obtidas podem ser usadas em ensaios de cruzamentos controlados para desenvolvimento de novas variedades ou usadas na produção industrial de um determinado composto de alto valor acrescentado.

### **II.1 Identificação de plantas de cardo com produção aumentada de compostos de interesse**

Este trabalho está a ser desenvolvido no âmbito da tese de doutoramento da aluna Ana Ferro, sob orientação da Professora Margarida Oliveira, numa colaboração com o Instituto de Tecnologia Química e Biológica. Para além disso, resulta de uma forte interação com o Grupo dos Compostos Bioativos e decorre

no seguimento do projeto ValBioTeCynara que pretende geneticamente caracterizar as várias populações em estudo, tem estabelecida uma parceria com a Universidad de Almeria. O objetivo deste trabalho é a identificação, na população natural, de plantas de cardo com variações genéticas de interesse para os compostos de valor acrescentado em estudo (cinaropricrina e acetato de taraxesteril).

## **5.4 Grupo Genómica Animal e Bioinformática**

**Investigadora Principal:** António Marcos Ramos

**Membros da equipa:** Anabel Chimenos (Investigadora de Pós-Doutoramento); Pedro Barbosa (Bolsheiro de Investigação); Brígida Meireles (Bolsheiro de Investigação) e Daniel Gaspar (Aluno de mestrado e Bolsheiro de Investigação).

O grupo de Genómica Animal e Bioinformática terá como objetivo principal para o ano de 2016 continuar o processo de dinamização no CEBAL de linhas de investigação dedicadas às áreas de genética, genómica e melhoramento animal, com ênfase nas raças autóctones nacionais. Em paralelo, através de linhas de investigação no âmbito da genómica e bioinformática, o grupo continuará a desenvolver trabalho em espécies florestais e agrícolas, com destaque para o sobreiro, nomeadamente na finalização do projecto Genosuber.

### **I. Dinamização do grupo de Genómica Animal e Bioinformática**

Para 2016 será continuada a aposta na dinamização do grupo, através da execução de projetos científicos já financiados e da participação em novas candidaturas a fontes de financiamento. Depois de em 2015 ter sido dada prioridade à região do Alentejo, para 2016 o grupo irá também apostar mais fortemente em estabelecer colaborações e parcerias com instituições localizadas noutras regiões do país. A aposta em projetos de investigação fundamental e aplicada será mantida, com destaque para as principais espécies de interesse pecuário (suínos, bovinos, ovinos e caprinos).

### **II. Detecção de marcadores moleculares para características produtivas de interesse económico no porco Alentejano**

No âmbito do programa Investigador FCT, que financia o Investigador Principal, está garantido financiamento para um projeto de investigação que incide sobre a deteção de marcadores moleculares no Porco Alentejano, para características produtivas de interesse económico. Neste projeto contaremos com a colaboração das associações de criadores da raça.

Este projeto irá utilizar sequenciação de última geração, em particular a re-sequenciação total do genoma de vários animais da raça Porco Alentejano, de forma a identificar quais as regiões do genoma associadas com as características estudadas. Em 2016 está prevista a recolha de amostras de material biológico nos animais selecionados, a produção dos dados de sequenciação necessários para a execução científica do projeto, a análise bioinformática dos dados e a preparação das publicações científicas com os resultados obtidos.

### **III. Análise transcriptómica da resistência ao stress térmico em trigo**

Este projeto está também já financiado pela FCT, no âmbito do programa Investigador FCT, e está a ser executado em colaboração com a Unidade Estratégica de Biotecnologia e Recursos Genéticos do INIAV

(Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária).

O objetivo do projeto é aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos de adaptação a condições de stress térmico, de variedades de trigo Portuguesas e comerciais. Em 2016 serão produzidos os dados de sequenciação necessários para a execução científica do projeto, a análise bioinformática dos dados e a preparação das publicações científicas com os resultados obtidos.

#### **IV. Genosuber – sequenciação do genoma do sobreiro**

Devido a alguns atrasos imprevistos o projeto Genosuber não foi finalizado em 2015, como inicialmente estava planeado. A finalização deste projeto será encarada como uma prioridade máxima para o grupo, dada o envolvimento muito substancial que tem na definição e execução da estratégia científica, em particular a componente de análises bioinformáticas. A finalização deste projeto está prevista para Julho de 2016.

#### **V. Desenvolvimento de marcadores moleculares para características relativas à produção de sobreiro e cortiça**

Para 2016 está prevista a participação em vários projetos que envolvem a deteção de marcadores moleculares para características relativas à produção de sobreiro e cortiça, incluindo estudos de transcriptómica, mapeamento de QTLs e estudos de associação genómica. Está prevista a finalização de vários destes estudos na segunda metade de 2016. O número exato de estudos que serão finalizados depende largamente dos recursos humanos disponíveis no grupo, o que de momento ainda é uma incerteza para todo o ano de 2016.

## 5.5 Grupo de Valorização de Agro-Alimentos

**Investigadora Principal:** Eliana Jerónimo

**Membros da Equipa:** Ana Rita Prazeres (Investigadora de Pós-Doutoramento); Olinda Guerreiro (Aluna de Doutoramento); Flávia Fernandes (Bolseira de Investigação); Ana Margarida Pereira (Aluna de Mestrado); Alexandra Afonso (Aluna de Mestrado)

### I - Caracterização e melhoramento de produtos de origem vegetal

#### 1. Estudo integrado para melhoria da qualidade e segurança alimentar de frutos minimamente processados

Esta área de trabalho tem por objetivo: i) estudar as bases fisiológicas e bioquímicas das alterações de qualidade de frutos minimamente processados, e ii) desenvolver processos que assegurem a qualidade e segurança alimentar destes produtos ao longo de toda a cadeia do abastecimento. Em 2016 pretende-se dar continuidade aos trabalhos já iniciados no CEBAL neste domínio, tendo como frutos alvo a romã e o figo da índia. Assim, para 2016 está prevista a conclusão dos ensaios experimentais iniciados em 2015 com os dois frutos. Relativamente à romã minimamente processada está a decorrer um trabalho que envolve o desenvolvimento de um revestimento comestível que seja adequado às características dos bagos de romã, a incorporação de um extrato natural obtido a partir dos resíduos do descasque da romã no revestimento e aplicação do revestimento em bagos de romã, sendo avaliada a eficácia do revestimento desenvolvido na qualidade dos bagos de romã através da monitorização de um conjunto de parâmetros físico-químicos, microbiológicos, nutricionais e sensoriais durante o tempo de conservação. No que diz respeito ao figo da índia, foi também testada a utilização de atmosfera modificada ativa comparativamente com a atmosfera passiva sobre as propriedades físico-químicas, nutricionais e microbiológica de figo-da-índia inteiro descascado. Em ambos os ensaios, está previsto para 2016, o término das determinações analíticas, análise dos resultados obtidos e preparação de material de divulgação dos mesmos. No que se refere à romã, esta também prevista a conclusão da tese de mestrado da Aluna Ana Margarida Pereira.

#### 2. Impacto do sistema de produção sobre a produtividade e qualidade produtos hortofrutícolas

A utilização de fatores de produção mais económicos e sustentáveis como alternativa aos convencionais na produção agrícola tem sido cada vez mais explorada, com especial foco na utilização de resíduos que podem ser fontes de água e de nutrientes para as culturas. Neste contexto foram candidatados 2 projetos – HYDROREUSE e MITILIX ao Programa Operacional Regional do Alentejo (Alentejo 2020) - Sistema de Apoio à Investigação Científica e Tecnológica – Projetos de Investigação Científica e Desenvolvimento Tecnológico (IC&DT), que têm início previsto para 2016. O projeto “HYDROREUSE – Tratamento e reutilização de águas residuais agroindustriais utilizando um sistema hidropónico inovador com plantas de tomate” (ALT20-03-

0145-FEDER-000021) tem por objetivo desenvolver um sistema hidropónico utilizando a planta do tomate para o tratamento e reutilização de águas residuais agroindustriais pré-tratadas. Para além da participação na caracterização das águas residuais e avaliação da eficácia deste tipo de estratégia no seu tratamento, o CEBAL irá participar na avaliação biométrica, química e molecular das plantas do tomate e na avaliação da produção, qualidade e tempo de prateleira do tomate produzido. Este projeto é coordenado pela Doutora Ana Rita Prazeres e decorrerá em parceria com a Escola Agrária do Instituto Politécnico de Beja, a Unidade de Materiais Fibrosos e Tecnologias Ambientais da Universidade da Beira Interior e com o Grupo de Investigação TRATAGUAS da Universidade da Extremadura, Espanha. O projeto “MITILIX - Desenvolvimento e aplicação de tecnologias inovadoras para o tratamento de lixiviados com mitigação de CO2 Atmosférico” (ALT20-03-0145-FEDER-000044) tem por objetivo o desenvolvimento de uma tecnologia inovadora para o tratamento de lixiviados de resíduos sólidos urbanos. As tarefas do Grupo de Valorização de Agro-Alimentos no âmbito deste projeto centram-se no estudo da utilização de lixiviados tratados na cultura da alface, sendo avaliado o efeito sobre a produtividade e qualidade da alface. Este projeto é coordenado pela Doutora Fátima Carvalho da Escola Agrária do Instituto Politécnico de Beja.

## **II - Caracterização e melhoramento de produtos de origem animal**

### **1. Utilização de plantas endógenas ou subprodutos da agro-indústria na alimentação animal**

Os recursos alimentares alternativos, como plantas arbóreas e arbustivas ou subprodutos da agroindústria, têm sido amplamente explorados para substituição de parte dos alimentos concentrados comerciais em dietas para animais de produção, com vista à redução dos custos com a alimentação mas também como forma de induzir melhorias no estado de saúde e bem-estar dos animais e na qualidade dos seus produtos. Assim, é objetivo desta linha de trabalho explorar a utilização de recursos alimentares alternativos na alimentação animal, contribuindo para o aproveitamento e a valorização destes recursos, mas também para a sustentabilidade e a competitividade do setor da produção animal, através da redução dos custos produtivos e obtenção de produtos de qualidade diferenciada e de maior valor acrescentado. Nesta linha de trabalho, o grupo tem centrado os seus estudos na utilização da Esteva na alimentação animal, procedendo á sua caracterização, avaliação do impacto da sua incorporação na dieta de ruminantes e estudo dos mecanismos pelos quais a sua utilização nas dietas permite melhorias no perfil de ácidos gordos e estabilidade oxidativa dos produtos. Assim, para 2016 esta previsto dar continuidade à execução do projeto “CistusRumen - Utilização sustentável da Esteva (*Cistus ladanifer* L.) em pequenos ruminantes – Aumento da competitividade e redução do impacto ambiental” (ALT20-03-0145-FEDER-000023), candidatado ao Programa Operacional Regional do Alentejo (Alentejo 2020) - Sistema de Apoio à Investigação Científica e Tecnológica – Projetos de Investigação Científica e Desenvolvimento Tecnológico (IC&DT). Este projeto que tem por objetivo o estabelecimento das bases científicas e tecnológicas que suportem a implementação de estratégias nutricionais para pequenos ruminantes que contribuirão para, i)

o controlo, aproveitamento e valorização de um recurso endógeno extremamente abundante na região – a Esteva; ii) o aumento de competitividade do setor de produção de ovinos e caprinos no Alentejo, pela redução dos custos com a alimentação, melhoria do estado de saúde e bem-estar dos animais e incremento da qualidade dos produtos; e iii) redução do impacto ambiental destes sistemas de produção animal. Este projeto é coordenado pela Doutora Eliana Jerónimo e decorrerá em parceria com o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – Polo de Santarém, a Universidade de Évora, a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, a Universidade de Aveiro e a Associação de Defesa do Património de Mértola (ADPM). Para 2016, está previsto dar continuidade a algumas tarefas deste projeto já iniciadas em 2015, nomeadamente a caracterização fenológica, morfológica, química e nutricional da Esteva e determinação da quantidade de taninos condensados de Esteva que permita induzir alterações mais favoráveis no biohidrogenação ruminal conducentes à melhoria do perfil de ácidos gordos nos produtos dos ruminantes (ie. aumento da síntese ruminal de ácido vacénico).

Relativamente à caracterização fenológica, morfológica, química e nutricional da Esteva será avaliada a composição morfológica de Esteva instalada no Alentejo ao longo de um ciclo fenológico, e caracterizar em termos de composição química e valor nutricional cada uma das partes morfológicas da Esteva. Para tal, plantas de Esteva com idades compreendidas entre 2 e 4 anos serão recolhidas com uma periodicidade mensal até completar um ciclo completo. No laboratório, cada planta será separada em folhas, caules e órgãos reprodutivos (botões florais, flores e capsulas com sementes) e determinado o peso de cada uma das partes em fresco e após secagem a 40 °C. Em cada uma das partes da planta será avaliada a composição proximal, composição em ácidos gordos e em compostos fenólicos e terpénicos, bem como a digestibilidade *in vitro* e a produção de gás *in vitro*. Esta tarefa decorrerá em parceria com o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) – Polo de Santarém, a Universidade de Aveiro e a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Para a determinação da quantidade de taninos condensados de Esteva que permita otimizar a síntese ruminal de ácido vacénico será realizado um ensaio *in vitro*. Neste ensaio, quantidades crescentes de taninos de Esteva serão incubados com fluído ruminal obtido a partir de carneiros dotados de cânula ruminal. No início e final do período de incubação, no fluído ruminal será avaliado o perfil de ácidos gordos voláteis e de ácidos gordos de cadeia longa, para determinação do efeito dos taninos no processo de fermentação e biohidrogenação ruminal, respetivamente. Este trabalho decorrerá no âmbito do plano de trabalho de doutoramento da Aluna Olinda Guerreiro e em parceria com o Professor Rui Bessa da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. Os dois níveis de taninos que induzam a modificações mais favoráveis no perfil de biohidrogenação ruminal (ou seja, maior acumulação de ácido vacénico) e a menor impacto sobre a produção de ácidos gordos voláteis, serão selecionados para uso num ensaio *in vivo* com borregos, a realizar em 2016. No ensaio *in vivo* com borregos, o efeito da incorporação dos 2 níveis de taninos de Esteva selecionados anteriormente serão comparados com uma dieta controlo

sem adição de taninos, mas também com dietas onde parte da forragem é substituída por Esteva na quantidade necessária para atingir o mesmo nível de taninos. No ensaio produtivo com os borregos serão explorados os mecanismos pelos quais a Esteva e os seus taninos são capazes de modular a biohidrogenação ruminal e o perfil de ácidos gordos da carne. A par disto serão avaliados um conjunto de parâmetros relativos ao metabolismo ruminal, desempenho produtivo dos animais, qualidade e estabilidade oxidativa da carne e indicadores de bem-estar animal. O ensaio *in vivo* decorre em parceria com o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – Polo de Santarém e a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

## **2.2 Desenvolvimento de revestimentos comestíveis para aplicação em queijos tradicionais**

O objetivo desta linha de trabalho consiste na avaliação da viabilidade da aplicação de um revestimento comestível à base de proteína de soro de leite em queijos tradicionais como forma de melhorar a estabilidade microbiana destes queijos. Este trabalho envolve o desenvolvimento de um revestimento comestível que apresente características promissoras para aplicação em queijos e teste do revestimento desenvolvido em queijos, sendo monitorizado ao longo do período de maturação dos queijos um conjunto de parâmetros bioquímicos, microbiológicos e sensoriais. Este trabalho decorrerá no âmbito do plano de trabalho da Aluna Alexandra Afonso, que se encontra a realizar Mestrado na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja.

Adicionalmente, para 2016 está prevista a participação do Grupo de Valorização de Agro-Alimentos no projeto “SelectPorAl – Seleção e melhoramento genómico de características produtivas do Porco Alentejano” (ALT20-03-0145-FEDER-000032), candidatado ao Programa Operacional Regional do Alentejo (Alentejo 2020) - Sistema de Apoio à Investigação Científica e Tecnológica – Projetos de Investigação Científica e Desenvolvimento Tecnológico (IC&DT). As atividades do grupo no âmbito deste projeto centram-se na avaliação de parâmetros de qualidade da carne. O projeto é coordenado pelo Doutor António Marcos Ramos do Grupo de Genómica Animal e Bioinformática do CEBAL.

## 5.6 Grupo de Engenharia de Processos

**Investigador Principal:** Maria Conceição Fernandes

**Membros da Equipa:** Júnia Aparecida Alves Ferreira Caturra (aluna de Doutoramento); Teresa Brás (aluna de Doutoramento); Ivone Torrado (aluna de Doutoramento)

### I. Conversão de biomassa lenho-celulósica em bioetanol ou outros compostos de valor acrescentado

#### I.1- Seleção de estirpes de *E.coli* tolerantes a multi-inibidores resultantes dos pré-tratamentos da biomassa lenhocelulósica.

Este projeto foi submetido ao Alentejo 2020 e tem por objetivo caracterizar e quantificar a resposta fisiológica de estirpes da fábrica celular *E. coli*, a compostos usualmente presentes em hidrolisados lenhocelulósicos e identificar os mecanismos determinantes dessas respostas.

Este trabalho será realizado em colaboração com o Doutor Luís Duarte, José Roseiro, Florbela Carvalheiro do Laboratório Nacional de Energia e Geologia-Unidade de Bioenergia (LNEG-UB) e tem como consultor o Prof. Doutor Alfredo Martínez do Instituto de Biotecnologia- Un. Autónoma do México (UNAM).

Durante primeiro ano está previsto a realização da caracterização da diferença de tolerância entre estirpes de *E. Coli*. Esta tarefa consiste num screening de vários genótipos relevantes de fábricas celulares de *E. coli*, na tentativa de descobrir as estirpes menos e mais tolerantes. As estirpes serão cultivadas em frascos de agitação em meio de xilose em condições ótimas de: temperatura, pH inicial, e condições de transferência de oxigénio e diferentes concentrações de ácidos acético e fórmico, furfural, HMF, e compostos fenólicos selecionados (seringaldeído, vanilina, 4-methylcatechol) ou suas combinações. Serão usadas as melhores condições descritas por. Amostras periódicas irão permitir quantificar o açúcar consumido e a taxa de formação de biomassa e produtos metabólicos, bem como os dados similares de inibidores específicos semelhantes. Será dada especial atenção para o cálculo da duração da fase latência e taxas específicas de crescimento máximos para cada condição/estirpe.

A meio do ano daremos início à cultura continua na presença de compostos inibitórios. Nesta tarefa a fisiologia das estirpes selecionadas na Tarefa 1 serão estudadas utilizando técnicas de cultura contínua. A fim de ter uma caracterização fisiológica profunda das estirpes modificadas e para um rastreio rápido do comportamento dinâmico das estirpes sobre uma vasta gama de condições, a técnica de estado transitório, os chamados acelerostato também irá ser utilizada em conjunto com estudos quimiostatos clássicos.

### II. Ensaio Sacarificação e Fermentação para produção de bioetanol e ácido láctico

Dentro do trabalho da aluna Júnia Caturra “Valorização integral de plantas arbustivas espontâneas num enquadramento de biorrefinaria”, está previsto iniciarem-se os estudos de hidrólise enzimática e de fermentação de ácido láctico com estirpes de *E. coli* modificada. Este estudo está ser realizado em colaboração com a Prof<sup>a</sup>. Helena Pereira do Instituto Superior de Agronomia e da Doutora Florbela Carvalheiro do LNEG.

Ainda dentro deste âmbito será feito uma estadia de junho-agosto de 2015, no Instituto de Biotecnologia da UNAM, México para a realização de “Estudos de sacarificação e fermentação simultânea de *Cistus ladanifer* com celulasas e *Escherichia coli* modificada por engenharia metabólica”. Este trabalho vai ser feito em colaboração com o Prof. Alfredo Martínez Jiménez.

### **III – Estudos com pesticidas**

Tendo a aprovação do projeto *Optimum-pesticide-control* submetido ao POCTEP em janeiro de 2016 iniciaremos uma nova linha de investigação no grupo de Eng. de Processos na área dos dos pesticidas.

#### **1. Análise e seguimento de pesticidas em cultivos intensivos e extensivos**

O projeto *Optimum-pesticide-control*-Análise da estabilidade e monitorização de resíduos de pesticidas no solo, folhas e frutos em condições de cultivo intensivo e extensivo. Otimização da utilização de pesticidas e controlo de qualidade dos produtos agrícolas/alimentares produzidos, tem previsto o início das atividades em outubro de 2016. Este trabalho envolve a construção de métodos analíticos para análise de pesticidas e produtos de degradação por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) com detectores de U.V, fluorescência e massa. Este trabalho é liderado pelo Prof. José Paulo da Silva da U. do Algarve e participam para além do CEBAL a Doutora Lucía Cox do Instituto de Recursos Naturales y Agrobiologia de Sevilha (IRNAS) do Conselho Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de Espanha.

## **6. Unidade de Prestação de Serviços**

No decorrer de 2015 a Unidade de Prestação de Serviços ficou sem coordenadora. Para dar resposta a esta alteração para 2016 é proposta um delineamento objetivo, com imput dos investigadores, no sentido de serem identificados 4-5 serviços de base-tecnológica tipo, diferenciadores das respostas obtidas na região, e que permitam ao CEBAL a sua comercialização.

## **7. Novas Candidaturas a Financiamento**

Para 2016 estão pensadas apenas candidaturas estratégicas, de índole mais transversal à atividade do CEBAL. Tal decisão deve-se principalmente ao recente sucesso na aprovação da maioria das candidaturas apresentadas no âmbito do Programa Operacional Alentejo 2020. Materializar-se-á, no entanto, as propostas submetidas no âmbito dos Grupos Operacionais enquadrados no PDR2020.

As áreas das novas candidaturas refletirão naturalmente o enunciado nos planos de atividade de cada um dos grupos de investigação, com destaque para o sobreiro, o azeite, o cardo, a esteva (e outras fontes de matérias-primas e resíduos lenhocelulósicos), a bioinformática com diferentes contextualizações.

Como projetos estruturais do CEBAL é expectável que durante o ano de 2016 comecem as reuniões preparatórias para o estabelecimento da estratégia a seguir para uma segunda fase de financiamento da Rede de Ciência e Tecnologia do Alentejo, de onde o CEBAL é parte ativa.