

Recursos Microbiológicos para Biotecnologia

Vanderlei Perez Canhos¹ e Gilson Paulo Manfio²

¹Centro de Referência em Informação Ambiental (CRIA, <http://www.criabr.org.br>), Av. Romeu Tórtima 388, Cidade Universitária, CEP 13084-520, Campinas (SP);

²Coleção de Culturas Tropical (CCT), Fundação André Tosello, Rua Latino Coelho 1301, CEP 13087-010, Campinas (SP).

E-mail: vcanhos@criabr.org.br / Fone/Fax: (19) 3288-0466

Resumo. O presente documento traz uma avaliação do impacto dos recentes avanços em sistemática e ecologia microbiana, e bioinformática no desenvolvimento da biotecnologia. A diversidade microbiana representa uma fonte importante de recursos genéticos para o avanço da biologia e biotecnologia. Estudos recentes em ecologia molecular microbiana demonstram que a extensão da diversidade microbiana na natureza é muito maior do que previamente pensado. Estratégias tradicionais de isolamento e seleção de microrganismos tem garantido o desenvolvimento de novos fármacos e aplicações nas áreas de saúde, agricultura, indústria e meio ambiente. Novas abordagens de trabalho, envolvendo metodologias de bioinformática e biologia molecular, permitem a prospecção *in silico* de informações a partir de dados genômicos em bases de dados, e a análise de microrganismos sem a necessidade de isolamento e cultivo, a partir da clonagem direta de DNA de amostras ambientais. Com isso, é possível a caracterização e descoberta de novos genes, enzimas, metabólitos bioativos e fármacos associados à rica diversidade de organismos ainda não-cultivados e desenvolvimento de novas estratégias de seleção e triagem de novos produtos, alvos e ensaios a partir do conhecimento da genômica e expressão gênica de organismos diversos.

Índice

1. DIVERSIDADE MICROBIANA: ESCOPO, DIMENSÃO E APLICAÇÕES	2
2. BIOTECNOLOGIA NO SÉCULO 21	6
3. A MUDANÇA DE PARADIGMA.....	8
4. RECURSOS GENÉTICOS MICROBIANOS PARA A BIOTECNOLOGIA NA ERA PÓS- GENÔMICA.....	9
4.1. IMPORTÂNCIA DA SISTEMÁTICA COMO FERRAMENTA	9
4.2. ECOLOGIA MICROBIANA: BIOGEOGRAFIA E BIODIVERSIDADE.....	10
4.3. BIOINFORMÁTICA E INFORMÁTICA PARA BIODIVERSIDADE: A INTEGRAÇÃO DE DADOS.....	11
4.4. GENÔMICA FUNCIONAL: CHAVE PARA NOVAS DESCOBERTAS E APLICAÇÕES.....	11
4.5. METAGENOMA: EXPLORAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE ORGANISMOS NÃO-CULTIVADOS 12	12
4.6. CENTROS DE RECURSOS BIOLÓGICOS (CRB'S)	15
4.7. NOVAS EMPRESAS DE BASE TECNOLÓGICA	16
5. RECOMENDAÇÕES	16
5.1. CONSOLIDAÇÃO DA CAPACIDADE INSTITUCIONAL.....	18
5.2. APOIO A PROJETOS INTEGRADOS.....	18
5.3. ESTABELECIMENTO DE REDES DE INFORMAÇÃO ESPECIALIZADAS	19
5.4. APOIO AO ESTABELECIMENTO DE EMPRESAS EMERGENTES DE ALTA TECNOLOGIA.....	19
5.5. APOIO À CONSOLIDAÇÃO DA REDE BRASILEIRA DE CENTROS DE RECURSOS BIOLÓGICOS.....	19
6. ESTRATÉGIAS	21
6.1. DIAGNÓSTICO DA CAPACIDADE INSTITUCIONAL E DETALHAMENTO DA ESTRATÉGIA NACIONAL.....	21
6.2. CAPACITAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS.....	22
6.3. WORKSHOPS PARA DEFINIÇÃO DE ESTRATÉGIAS.....	22
6.4. ESTABELECIMENTO DE REDES TEMÁTICAS ESPECIALIZADAS E INTEGRADAS.....	22
6.5. ESTABELECIMENTO DE CENTROS TEMÁTICOS.....	23
6.6. PROGRAMAS DE APOIO A CONSÓRCIOS DE BIOTECNOLOGIA	23
7. PRIORIDADES	23
7.1. PRIORIDADES IMEDIATAS (2001-2002).....	23
7.2. PRIORIDADES DE MÉDIO PRAZO (3-5 ANOS).....	24
7.3. PRIORIDADES DE LONGO PRAZO (5 A 10 ANOS).....	24
8. REFERÊNCIAS.....	25

1. Diversidade Microbiana: Escopo, Dimensão e Aplicações

Os microrganismos apresentam uma imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas, como componentes fundamentais de cadeias alimentares e ciclos biogeoquímicos (Myers, 1996; Schimel, 1995). Apesar de sua grande importância na manutenção da biosfera, estima-se que menos de 10% dos microrganismos existentes no planeta tenham sido caracterizados e descritos (Staley, 1998).

A grande maioria dos esforços de estudo e uso sustentável da biodiversidade tem sido enfocada em macrorganismos (mamíferos, aves, peixes e plantas). Estimativas recentes indicam que os microrganismos e invertebrados constituem quase que 90% das espécies da biosfera e desempenham um papel fundamental no funcionamento de ecossistemas (Figura 1). Conhecemos mais de 80% das plantas e mais de 90% dos vertebrados existentes na natureza, enquanto que conhecemos menos de 1% das bactérias e vírus, e menos que 5% dos fungos. Embora sejam menos estudados, muitos grupos de microrganismos são essenciais para a sobrevivência das formas de vida na terra (Hamond, 1995).

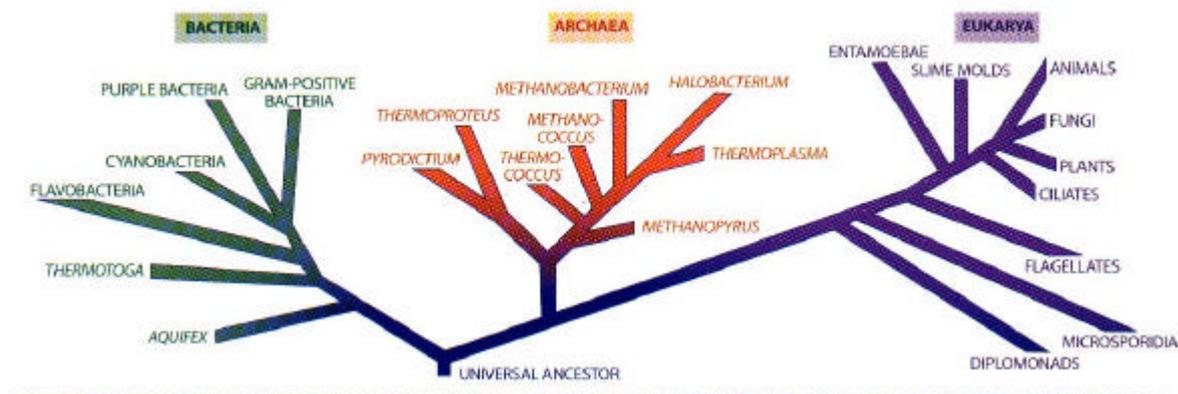


Figura 1. Representação filogenética da diversidade de organismos vivos, evidenciando a abrangência dos principais grupos de microrganismos.

O conhecimento da diversidade de microrganismos *sensu stricto* (bactérias, arqueas, fungos e protozoários), parasitas intracelulares (vírus) e invertebrados microscópicos (nematóides e ácaros) é limitado e heterogêneo, sendo detalhado a seguir.

- **Bactérias e Arqueas (Archaea).** Estima-se que são conhecidos menos que 1% das bactérias e arqueas existentes na biosfera. O número de espécies de bactérias descrita na literatura vem crescendo nos últimos anos em virtude do desenvolvimento de ferramentas de biologia molecular, que possibilitam a análise de seqüências de DNA a partir de material genômico extraído diretamente de amostras ambientais. As novas técnicas evidenciaram a enorme diversidade genética de bactérias presentes em apenas um grama de solo. Estima-se que em 1 g de solo ocorram entre 20 e 40 mil espécies bacterianas. Considerando-se que são descritas cerca de 5.000 espécies de bactérias, cuja maioria não é de solos, há uma enorme lacuna de conhecimento a ser preenchida em estudos de biodiversidade.
- **Fungos.** Estima-se que apenas 5% dos fungos existentes tenham sido descritos. Os fungos estão envolvidos em inúmeras relações mutualistas, amensais, comensais e competitivas com outros organismos. Muito progresso tem sido feito com relação à catalogação de fungos superiores, que formam sistemas de reprodução macroscópicos (cogumelos). Já os fungos

micorrízicos, que formam relações mutualistas com plantas, foram muito pouco estudados. Os fungos micorrízicos arbusculares são comuns em todo o mundo, porém apenas as espécies associadas a plantas de interesse agrícola foram estudadas de maneira adequada.

- **Protozoários.** Estima-se que apenas 10% dos protozoários são conhecidos. Eles são, juntamente com os nematóides, os principais predadores de microrganismos dos ecossistemas terrestres. Os protozoários poderiam ser classificados de acordo com sua preferência alimentar (bactérias ou fungos), preferência de habitat (acidófilo ou neutrófilo), ou importância ecológica.
- **Vírus.** Os vírus podem ser conceituados como agentes infecciosos muito pequenos, sem estrutura celular, contendo um só tipo de ácido nucléico. Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, apresentam um processo de multiplicação sem paralelo com a reprodução dos demais organismos e, de modo geral, a definição de espécies virais não é claramente determinada, uma vez que se encontram em processo constante e rápido de evolução.
- **Nematóides.** Os nematóides são invertebrados microscópicos que vivem nas películas de água formadas ao redor de partículas do solo. Estima-se que mais de 100.000 espécies de nematóides ainda estão para ser descritas (NSF, 1997). Estes animais são muito importantes para as cadeias tróficas em solos. São melhores conhecidas as espécies de nematóides parasitas de plantas de interesse agrícola, uma vez que causam redução da produtividade das culturas, afetam a translocação de água e nutrientes pela planta, além de diminuir a qualidade e o tamanho de frutos e tubérculos. Devido à alta importância destes organismos para o equilíbrio ecológico dos solos, um grande esforço e incentivo deveria ser dado a pesquisas visando à descrição e o conhecimento das espécies de nematóides de vida livre.
- **Ácaros.** São conhecidos 45.000 espécies de ácaros. Estima-se que este número representa apenas 5% do total de espécies existentes. Os ácaros são o grupo de artrópodes de maior diversidade, o que reflete na sua grande diversidade de hábitos alimentares.

A evolução das metodologias de biologia molecular aplicada ao estudo do meio ambiente tem contribuído significativamente para um grande avanço do conhecimento sobre a diversidade microbiana. Resultados de estudos independentes de isolamento e cultivo, baseados em amplificação e sequenciamento de fragmentos do genes de rRNA 16S (rDNA 16S), demonstraram que a diversidade de microrganismos em amostras ambientais é vasta. Contudo, apenas uma pequena fração destes (<10% em solos e <1% em ambientes aquáticos) é usualmente recuperada em estudos baseados em isolamento e cultivo. A aplicação destas metodologias no estudo da diversidade de bactérias tem permitido a descoberta de uma gama extensa de novas linhas evolutivas neste grupo (Divisões). Como resultado destes estudos, o número de Divisões foi ampliado de 12, em 1984, para 36, em 1991 (Hugenholtz *et al.*, 1998a, b).

Métodos independentes-de-cultivo tendem a substituir métodos baseados em isolamento e cultivo para a realização de levantamentos e comparação da

composição, diversidade e estrutura de comunidades microbianas (Hugenholtz & Pace, 1996; Hugenholtz *et al.*, 1998a, b). Resultados de estudos moleculares de solos, ambientes marinhos e comunidades de ambientes extremos tem demonstrado que populações de microrganismos isolados em cultivo a partir de amostras destes habitats não representam necessariamente os organismos dominantes nos ambientes naturais (Hugenholtz *et al.*, 1998a). Uma das razões para esta discrepância é o fato de que os métodos de cultivo tradicionalmente utilizados em laboratório não representam as condições encontradas em ambientes naturais e tendem a selecionar microrganismos de crescimento rápido adaptados ao meio de cultivo utilizado.

Frente à vasta diversidade microbiana representada pelos organismos ainda não-cultivados e às limitações de cultivo e manipulação de microrganismos extremofílicos em laboratórios (hipertermófilos, psicrófilos e barofílicos, entre outros), torna-se premente a necessidade de adoção novas estratégias para a exploração plena da biodiversidade microbiana.

É importante ressaltar que grande parte dos avanços da biotecnologia moderna e agricultura são derivados das descobertas recentes nas áreas de genética, fisiologia e metabolismo de microrganismos (Manfio *et al.*, 1998). A diversidade genética e metabólica dos microrganismos tem sido explorada há muitos anos visando a obtenção de produtos biotecnológicos, tais como a produção de antibióticos (estreptomicina, penicilina, *etc.*), de alimentos (*e.g.*, cogumelos), processamento de alimentos (queijo, iogurte, vinagre, *etc.*), bebidas alcoólicas (vinho, cerveja, *etc.*), ácidos orgânicos (cítrico e fumárico), álcoois (etanol), alimentos fermentados (molho de soja), tratamento e/ou remediação de resíduos (esgotos domésticos, lixo), e, na agricultura, na fertilização de solos (fixação biológica de nitrogênio) e controle biológico de pragas e doenças (controle da lagarta da soja, da cigarrinha da cana de açúcar, de fitopatógenos como *Rhizoctonia* e outros).

Os benefícios científicos esperados de um maior conhecimento sobre a diversidade microbiana são extensos (Colwell, 1997; Hunter-Cevera, 1998), entre outros, a melhor compreensão das funções exercidas pelas comunidades microbianas nos ambientes terrestres e o conhecimento das suas interações com outros componentes da biodiversidade, como por ex., as plantas e animais. Os benefícios econômicos e estratégicos estão relacionados com a descoberta de microrganismos potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos para: novos antibióticos e agentes terapêuticos; probióticos; produtos químicos; enzimas e polímeros para aplicações industriais e tecnológicas; biorremediação de poluentes; e biolixiviação e recuperação de minérios. Outros benefícios incluem o prognóstico e prevenção de doenças emergentes em seres humanos, animais e plantas, e a otimização da capacidade microbiana para a fertilização dos solos e despoluição das águas.

2. Biotecnologia no Século 21

A biotecnologia é baseada na busca e descoberta de recursos biológicos industrialmente exploráveis. Uma abordagem clássica das etapas do processo de busca e descoberta biotecnológica passa resumidamente pela coleta de material biológico adequado, seguida da seleção e triagem de materiais com os atributos desejados, seleção final do(s) melhor(es) candidato(s) a partir de uma lista reduzida de opções e culmina com o desenvolvimento de um produto comercial ou processo industrial (Bull *et al.*, 2000).

Este conceito clássico de exploração de recursos biológicos ainda se mantém válido nos dias de hoje e constitui o modelo utilizado em diversos setores da indústria de biotecnologia mundial.

No escopo das aplicações microbianas em biotecnologia tradicional, o valor dos microrganismos é geralmente avaliado pelo potencial aplicação direta nos processos biotecnológicos ou valor de mercado dos produtos (Tabela 1). O valor indireto das biotecnologias baseadas em processos microbianos, contudo, é raramente contemplado, tal como: benefícios ambientais e sociais decorrentes do tratamento de resíduos industriais e poluição ambiental.

Avanços científicos e tecnológicos alcançados nos últimos anos vem revolucionando as abordagens tradicionais de exploração de recursos biológicos. O processo de busca e descoberta biotecnológica em si vem sofrendo profundas alterações em função das mudanças de modelos desencadeadas pelos avanços em biologia molecular, genômica e bioinformática.

As principais forças indutoras e direcionadoras do desenvolvimento em biotecnologia são a demanda econômica, direcionada pela indústria, políticas nacionais e internacionais, frequentemente influenciadas pela pressão pública, e os avanços em ciência e tecnologia. Juntos, estes componentes catalisam o desenvolvimento da biotecnologia, com a geração de novos mercados, solução de problemas crônicos e emergentes, e a melhoria da eficiência e custo de processos industriais. Biotecnologia é um exemplo primo de inovação radical, no sentido em que proporciona tecnologias inteiramente novas para atividades industriais existentes e permite a geração de novas indústrias (Bull *et al.*, 2000).

A biotecnologia é reconhecida como uma das tecnologias-capacitadoras para o século 21, frente às suas características de inovação radical, impacto atual e potencial frente a problemas globais (doenças, nutrição e poluição ambiental) (ten Kate, 1999) e à promessa de desenvolvimento industrial sustentável (utilização de recursos renováveis, 'tecnologia limpa', redução do aquecimento global) (Bull *et al.*, 1998).

Tabela 1. Alguns exemplos de utilização direta de microrganismos em processos biotecnológicos em diferentes segmentos da indústria.

Indústria de alimentos

- produção e preservação de alimentos
- produção de bebidas
- aromas e essências
- aditivos para alimentos (emulsificantes e espessantes)
- alimentos funcionais (nutracêuticos)

Indústria farmacêutica

- compostos farmacologicamente ativos
- antibióticos, antimicrobianos e antivirais
- vitaminas e hormônios
- vacinas e probióticos
- biopolímeros de aplicação médica (e.g., pele artificial)
- biotransformações em química fina

Agro-Indústria

- aumento de fertilidade do solo
- fixação biológica de nitrogênio
- controle biológico de insetos e patógenos
- promotores de crescimento de plantas
- promotores de crescimento animal
- anti-parasitídeos, antibióticos, antimicrobianos, antivirais
- vitaminas e hormônios
- vacinas e probióticos
- compostagem e tratamento biológico de resíduos

Indústria Química

- biotransformações em química fina e produção de matérias-primas
- assimilação de metano e enxofre em processos industriais
- surfactantes
- matérias-primas industriais diversas: polissacarídeos, polímeros, ácidos orgânicos, aminoácidos
- enzimas de aplicação industrial (detergentes, têxteis, papel e celulose)

Ambiental

- biorremediação de vazamentos de petróleo e resíduos tóxicos
- monitoramento de poluentes (biosensores)
- tratamento de resíduos industriais e águas residuárias
- biomineração (recuperação de metais pesados e radioisótopos)
- recuperação de áreas degradadas (micorrizas e bactérias fixadoras de nitrogênio)

Energia

- geração de combustíveis: álcool e biorefino de petróleo
-

A perspectiva de desenvolvimento da biotecnologia no século 21 em diferentes setores industriais é bastante heterogênea (Tabela 2). Até o momento, o impacto maior da biotecnologia foi no setor farmacêutico, mas é evidente que um potencial de desenvolvimento significativo existe para os demais setores industriais (WFCC, 1998), apesar das projeções de curto termo (Bull *et al.*, 2000) não evidenciarem uma mudança de cenário para os setores com contribuição de mercado menor que 1%.

Tabela 2. Fatias de mercado de setores selecionados do mercado mundial de biotecnologia.*

Setores	Fatias de mercado (%)	
	1996	Previsão para 2005
Química	<1	<1
Farmacêutica/ química fina	5–11	10–22
Papel e polpa	5	35
Alimentos	1–2	2–4
Textil	<1	<1
Couro	<1	<1
Energia	<1	<1

*Dados de Bull *et al.* (2000).

3. A Mudança de Paradigma

Os recentes avanços em ciência e tecnologia estão conduzindo a uma revisão e re-orientação de metodologias, permitindo que questões antigas e atuais sejam abordadas sob uma nova ótica (Wei, 1999). A mudança de paradigma observada nos últimos anos nas áreas de biologia e biotecnologia é exemplificada pela transição do enfoque da “biologia tradicional” para o enfoque da “bioinformática” e “informática para biodiversidade”.

Na abordagem de ‘biologia tradicional’, a estratégia de busca e descoberta é baseada na coleta de espécimes, na observação do sistema e na experimentação laboratorial, visando a organização sistemática do conhecimento e a formulação de conceitos. Os resultados desta abordagem podem ser ilustrados pelo processo de descoberta de antibióticos ou pela estratégia de desenvolvimento de ensaios de seleção e triagem de inibidores enzimáticos (Umezawa, 1972).

A abordagem de bioinformática é baseada na coleta e armazenamento e de dados em bases de dados e na análise e síntese da informação (*data mining*), visando a geração de conhecimento. A mudança conceitual consiste na “geração de conhecimento”, ou seja, o entendimento do que é importante em uma dada situação, “a partir da informação e dos dados disponíveis” (o conjunto de tudo o que se sabe sobre a situação em foco).

Bases de dados para bioinformática incluem seqüências de DNA (genomas), RNA e proteínas, proteomas, estruturas moleculares, diversidade química, biotransformações e biocatálises, vias metabólicas (metabolomas), biodiversidade e sistemática. Assim, experimentos inovadores podem ser realizados *in silico* ao invés de *in vivo* ou *in vitro*, reduzindo a um mínimo essencial a necessidade de realização de experimentos com modelos biológicos em laboratório. Os resultados desta abordagem podem ser exemplificados pelo

processo de geração de novos alvos farmacológicos via dados de genômica funcional.

A abordagem da “informática para biodiversidade” tem como alvo a integração de dados ambientais e biogeográficos com informações taxonômicas e dados complementares de interações bióticas, abióticas, bibliografia, bibliotecas digitais e outras, através da construção de sistemas de informação inter-operáveis. Um modelo deste tipo de base de dados em microbiologia, voltado para o foco de taxonomia foi desenvolvido pelo Center for Microbial Ecology (<http://www.cme.msu.edu>), Michigan State University em 1997 (Larsen *et al.*, 1997; Olivieri *et al.*, 1995).

Esta mudança de paradigma é sustentada por uma combinação de fatores críticos, incluindo:

- o ritmo acelerado de avanços tecnológicos em áreas distintas (*e.g.*, bioinformática, química combinatória, seleção e triagem de alto desempenho, bioeletrônica);
- a demanda da indústria e sociedade por descobertas inovadoras;
- pressão para redução do prazo e custos na descoberta de novos produtos;
- e,
- fatores de mercado ligados à re-estruturação das indústrias de biotecnologia no cenário global (aquisições e fusões).

4. Recursos Genéticos Microbianos para a Biotecnologia na Era Pós-Genômica

Alguns componentes da mudança de paradigma em biotecnologia requerem especial atenção: sistemática e ecologia microbiana, bioinformática e informática para biodiversidade, genômica e metagenômica, centros de recursos biológicos e perfil das novas empresas de base tecnológica.

4.1. Importância da sistemática como ferramenta

A sistemática microbiana aplicada é uma ferramenta poderosa na busca da inovação no desenvolvimento da biotecnologia. Em uma abordagem tradicional baseada na estratégia de isolamento e cultivo de microrganismos, ou mesmo em abordagens de bioprospecção molecular independentes de cultivo, a caracterização da diversidade de espécies (diversidade alfa ou riqueza de espécies) de uma dada amostra ou ambiente pode fornecer informações críticas para o delineamento de estratégias de exploração biotecnológica.

Inventários de diversidade taxonômica determinam a extensão da diversidade de organismos presente na amostra e como tal potencial pode ser explorado. Estas informações se tornam parte integral de uma base de conhecimento sobre a funcionalidade do ecossistema amostrado e este conjunto tem um papel importante no sucesso de um programa de bioprospecção.

A taxonomia existe em um estado dinâmico, onde os esquemas de classificação de microrganismos são modificados em função do acúmulo contínuo de novos dados. Nos últimos anos, revisões radicais foram propostas na classificação de diversos grupos microbianos, tanto em nível de espécies e gêneros, como na categoria de famílias e divisões superiores, frente a evidências fornecidas principalmente por dados moleculares de sequenciamento de DNA.

Assim, a sistemática microbiana pode ser uma ferramenta importante para o desenho de estratégias de busca e descoberta em biotecnologia. A aplicação da sistemática microbiana em estágios iniciais da prospecção biotecnológica permite a racionalização de esforços no sentido de se identificar o “novo” dentre a diversidade de organismos presentes em uma dada amostra ambiental e, combinada à bioinformática, em um sistema dinâmico de aquisição de dados ao longo do programa de bioprospecção biotecnológica, direcionar a prospecção de forma racional na exploração de novos ambientes, enfocando ambientes e grupos microbianos que apresentem altas taxas de sucesso nos ensaios de seleção e triagem. Esta estratégia de prospecção direcionada por informações de sistemática e dados geo-ecológicos é hoje continuamente aperfeiçoada e aplicada em grandes e pequenas empresas de biotecnologia em diferentes áreas.

4.2. Ecologia microbiana: biogeografia e biodiversidade

A biogeografia estuda a distribuição geográfica dos organismos, tendo se desenvolvido com referência quase exclusiva à ecologia de plantas e de animais. Espécies de ocorrência restrita a regiões geográficas específicas são denominadas “endêmicas”, enquanto que aquelas que apresentam uma distribuição ampla em diversas regiões do globo são denominadas “cosmopolitas”.

O conhecimento sobre a biogeografia de organismos é fundamental para se determinar a real extensão da diversidade microbiana, identificação de táxons ameaçados de extinção e identificação de funções ecológicas de espécies nos ecossistemas (Staley & Gosink, 1999). Para os propósitos de bioprospecção e biotecnologia, o conhecimento de biogeografia é importante para a definição de estratégias de busca e descoberta, ou seja, “onde procurar” por recursos biológicos potencialmente novos, e na definição de áreas de conservação de recursos biológicos e *pools* gênicos ricos em diversidade (Bull *et al.*, 2000).

A biogeografia microbiana é uma questão bastante controversa entre pesquisadores da área e existem debates acirrados sobre a aplicação deste conceito em microbiologia. Ecologistas microbianos e taxonomistas tenderam a ser relativamente pouco críticos em relação às colocações de Beijerinck e Baas-Becking (Staley & Gosink, 1999) de que bactérias (e por extensão todos os microrganismos) são cosmopolitas. A afirmação de que “tudo está em todo lugar” (*everything is everywhere*), à qual Baas-Becking adicionou “e o ambiente seleciona”, prepondera ainda hoje em diversos meios da microbiologia.

Contudo, enfoques contemporâneos de pesquisa contestam estas colocações tradicionais e evidências experimentais de que a biogeografia pode ter um papel importante em microbiologia vem se acumulando na literatura. Tiedje (1995) apresentou a questão sobre qual nível genotípico corresponde ao “tudo”, se

no nível de espécies, como empregado para caracterização de animais e plantas, ou em nível de variedades infra-específicas ou na sequência de DNA. A escala geográfica que deve ser aplicada para microrganismos como corresponde ao “todo lugar” também é questionada: grão de areia, agregado de solo, metro quadrado ou bioma? Estas questões podem hoje ser estudadas criticamente com a aplicação de métodos moleculares e análise química de alta resolução.

Alguns autores argumentam que estudos de biogeografia microbiana devam ser conduzidos na escala de variação infra-específica, dada a forte inter-relação entre fatores ambientais e geográficos e a especiação de microrganismos. O termo “geovar” (Staley & Gosink, 1999) foi proposto para especificar a variedade de um dado microrganismos endêmico a uma área específica ou hospedeiro.

Para o contexto de bioprospecção e biotecnologia, a biogeografia microbiana pode representar um componente crítico do processo de busca e descoberta, uma vez que propriedades biotecnológicas, em diversos casos, não se apresentam distribuídas uniformemente em todos os organismos de uma dada espécie, sendo associadas a linhagens específicas de uma população microbiana. A informação de biogeografia pode auxiliar na definição de novas estratégias de exploração dos recursos biológicos, quando são enfocados, por exemplo, as interação entre microrganismos e as relações microrganismo-hospedeiro em interações simbióticas, parasíticas ou mutualismos.

4.3. Bioinformática e informática para biodiversidade: a integração de dados

Conforme mencionado nas seções anteriores, a integração de dados é crítica para a definição e sucesso de estratégias de prospecção biotecnológica. Contudo, sistemas de informação de domínio público com conteúdo abrangente em microbiologia são raros e restritos a poucos grupos de microrganismos específicos, principalmente relacionados à saúde humana.

Existe uma demanda crescente de integração entre recursos biológicos e bases de dados contendo informações diversas, tais como: seqüências de nucleotídeos, proteômica e propriedades tecnológicas (Tiedje *et al*, 1995). Centros de recursos biológicos necessariamente terão que se estruturar para viabilizar estes tipos de integração.

4.4. Genômica funcional: chave para novas descobertas e aplicações

Genômica consiste na atividade de sequenciar genomas e derivar informações teóricas a partir da análise das seqüências utilizando ferramentas computacionais. Em contraste, a genômica funcional define o status do transcriptoma e do proteoma de uma célula, tecido ou organismo sob condições definidas. O termo transcriptoma se refere ao perfil de transcrição gênica (mRNA), enquanto que o termo proteoma define o conjunto de proteínas derivado da tradução do genoma, incluindo modificações pós-transcricionais de proteínas, e

proporciona informações sobre a distribuição de proteínas na célula ou organismo em função do tempo ou em resposta ao ambiente.

Juntas, genômica e genômica funcional proporcionam um mapa molecular preciso de uma dada célula ou organismo, e com isso, fornece informações para a busca de novos alvos para estratégias de busca e descoberta em biotecnologia.

Desenvolvimentos em tecnologia de sequenciamento e biologia molecular hoje permitem o sequenciamento em larga escala de DNA e a coleta em larga escala de dados experimentais através de ensaios robotizados e automatizados. Com isso, a quantidade de informação sobre genomas microbianos disponível em bancos de dados (*TIGR Microbial Database*, <http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdb.html>) e o potencial de utilização destas informações para prospecção de novos alvos para seleção dirigida de moléculas com propriedades de interação sítio-específica aumenta em ritmo exponencial. Ocorre hoje uma migração do *in vitro* para *in silico* (bioprospecção por *data mining*), onde, a partir de uma base de informação, se desenham estratégias para seleção e triagem *in vivo*.

Claramente, o Projeto do Genoma Humano também terá um impacto significativo na identificação de alvos potenciais para novas drogas, e estes alvos certamente influenciarão no desenho de estratégias específicas de seleção e triagem para drogas terapêuticas. O sucesso da abordagem de desenho racional de seleção realizados com a protease do vírus HIV-1 levaram rapidamente ao desenvolvimento de novas estratégias de desenho racional voltadas para a identificação de novos genes, análises de vias metabólicas e determinação de interações proteína-proteína utilizando sistemas diversos, incluindo sistemas híbridos em leveduras, biosensores de proteínas fluorescentes e modelagem de estrutura tridimensional. A tecnologia de *DNA microarrays* acrescentou uma ferramenta poderosa ao estudo de expressão gênica para o estudo da interação de moléculas bioativas com células, tecidos e organismos.

A utilização destas novas metodologias e estratégias tem a vantagem de serem aplicáveis no estudo e caracterização de genes diversos, conhecidos ou não, incluindo a prospecção de alvos em genomas de organismos ainda não cultiváveis ou difíceis de se cultivar em laboratório, tal como *Mycobacterium leprae*, causador da hanseníase, e *Treponema pallidum*, agente causal da sífilis.

4.5. Metagenoma: exploração do potencial biotecnológico de organismos não-cultivados

Metodologias moleculares que independem do cultivo, baseadas em extração direta de ácidos nucléicos de amostras ambientais (Figura 2), associada às técnicas de hibridização com sondas grupo-específicas e/ou PCR, clonagem e sequenciamento, vêm permitindo uma avaliação mais precisa da diversidade microbiana no ambiente e a descoberta de novos grupos de organismos, nunca antes cultivados. Entretanto, estas metodologias não nos permitem ter acesso ao potencial metabólico destes novos organismos, uma vez que as etapas de isolamento e cultivo são suprimidas dos estudos.

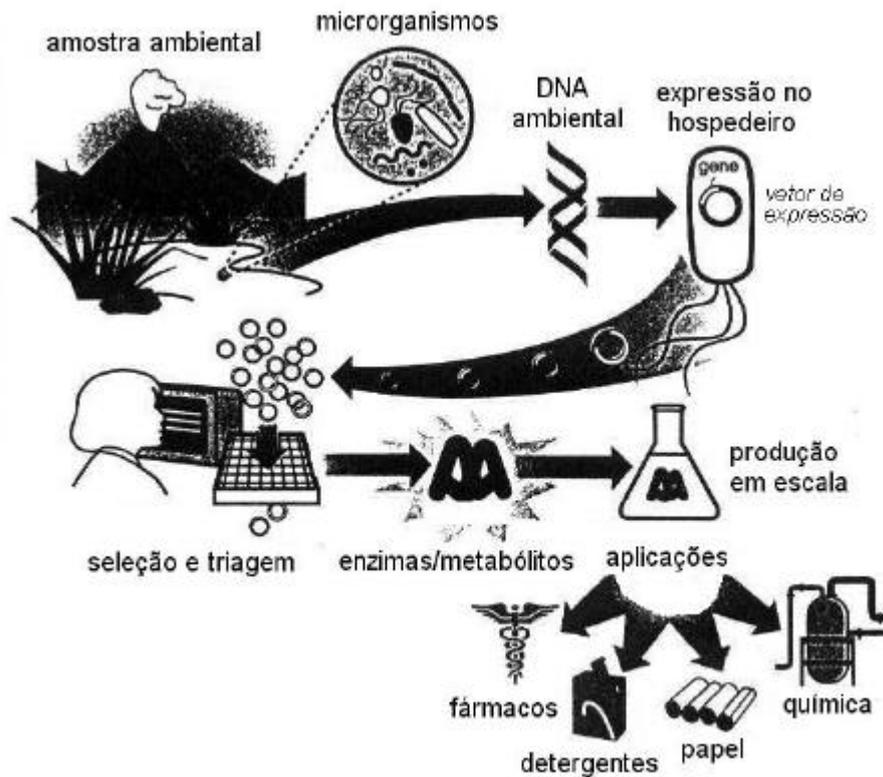


Figura 2. Diagrama da estratégia de busca e descoberta de produtos microbianos através da clonagem e expressão do DNA extraído diretamente da amostra ambiental (metagenoma) (adaptado de Bruggeman, 1998).

Uma estratégia alternativa para este problema envolve o uso do vetor BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) para clonagem de fragmentos grandes de DNA (>100 kb) a partir de amostras ambientais (Figura 3). Estes vetores têm a habilidade de manter de maneira estável fragmentos grandes de DNA exógeno em hospedeiros como *Escherichia coli*, e têm sido usados em bibliotecas genômicas de eucariotos. O método consiste na clonagem de fragmentos grandes de DNA, originados de DNA da comunidade microbiana total extraído diretamente de ambientes como solo ou sedimento (metagenoma), e análise das bibliotecas resultantes em busca de uma nova expressão fenotípica na linhagem hospedeira de *E. coli*. No caso de se usar a estratégia BAC para genomas bacterianos, existe a vantagem de que alguma expressão gênica ocorrerá nos clones BAC, pois o DNA inserido é procariótico.

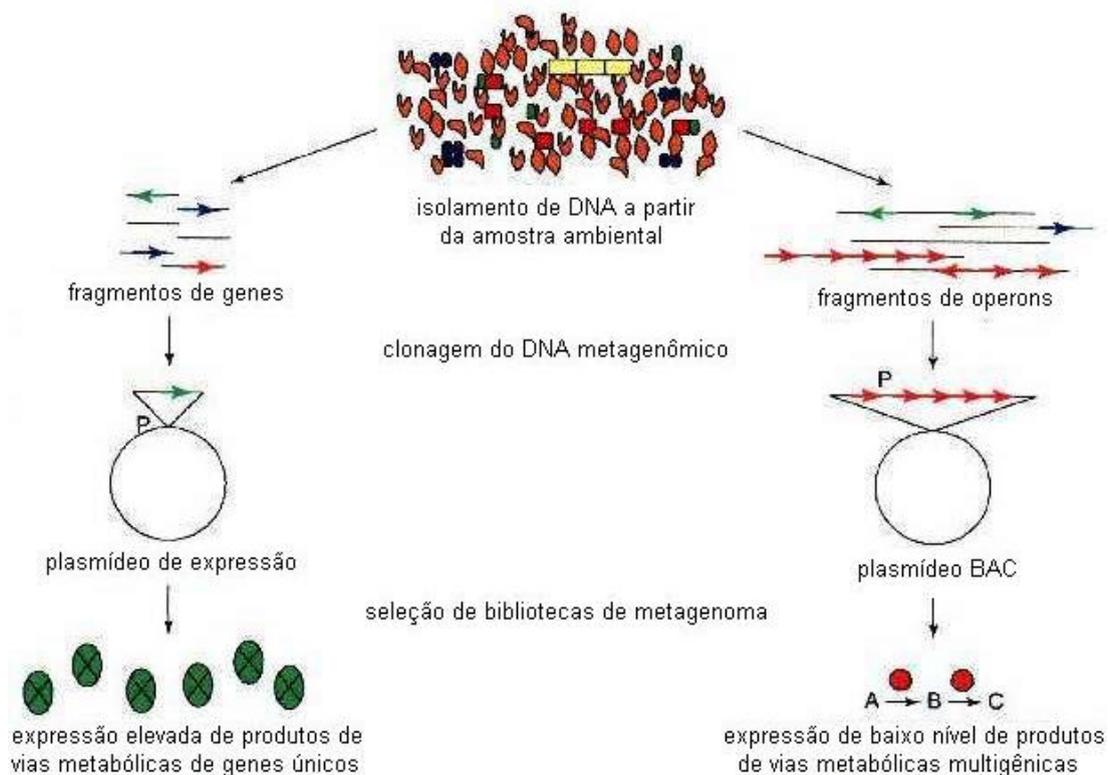


Figura 3. Diagrama da estratégia convencional e estratégia BAC para clonagem e expressão de fragmentos de DNA ambiental (adaptado de Rondon *et al.*, 1999).

Comparado às estratégias convencionais de clonagem de fragmentos relativamente pequenos de DNA (2-5 Kb), a estratégia BAC abre perspectivas para a descoberta de novos produtos naturais pela expressão por genes localizados em operons ou vias biossintéticas extensas. Os genes requeridos para a biossíntese de muitos antibióticos e outros metabólitos geralmente estão agrupados, juntamente com genes para auto-resistência, e são comumente grandes e difíceis de clonar usando-se estratégias convencionais. Com a estratégia BAC é possível clonar uma via biossintética inteira em um plasmídeo BAC, permitindo a captura, expressão e detecção de produtos naturais a partir de uma biblioteca construída de DNA ambiental. Ainda, a produção de tais compostos em um sistema geneticamente definido como aquele de *Escherichia coli* torna a manipulação dos genes clonados mais fácil.

Bibliotecas BAC oferecem uma ferramenta para avaliar de maneira mais abrangente a diversidade total em um dado ambiente, permitindo a análise de genes funcionais de membros da microbiota, inclusive de microrganismos não-cultivados.

4.6. Centros de Recursos Biológicos (CRB's)

Centros de Recursos Biológicos (CRB's) “são parte essencial da infraestrutura de apoio as ciências da vida e biotecnologia, atuando como provedores de serviços e repositórios de células vivas, genomas de organismos e informação relacionada a hereditariedade e funções de sistemas biológicos. CRB's contêm coleções de organismos cultiváveis (microrganismos, células de plantas, animais e humanas), partes replicáveis destas (e.g., bibliotecas genômicas, plasmídeos, vírus, cDNAs), organismos viáveis mais ainda não-cultivados, células e tecidos, assim como base de dados contendo informação molecular, fisiológica e estrutural relevantes a estas coleções e bioinformática relacionada” (definição baseada no relatório do Working Party on Biotechnology, fevereiro de 2001).

Localização estratégica e capacitação técnica e operacional dos CRB's são fatores determinantes para o desempenho das atividades de apoio à biotecnologia. No momento, poucos CRB's, com linhas de atuação relativamente restritas, encontram-se instalados nos países da América Latina (Microbial Resource Centers and Sustainable Development in the Americas, Maio 1998, <http://www.bdt.org.br/oea/sib/micwks>).

Dentre as funções e serviços prestados por CRB, destacam-se:

- Centros de Recursos Genéticos
 - conservação e arquivo da diversidade biológica e variabilidade genética
 - provisão de insumos par a biotecnologia
 - distribuição de material de referência para controle de qualidade/competitividade industrial
 - seleção e triagem de material biológicos para uso industrial
 - aplicações diversas nas áreas de saúde, agricultura, meio ambiente e educação
- Centros de Informação
 - organização e provisão de dados taxonômicos e tecnológicos sobre material biológico
 - disponibilização da informação sobre acervo par ensino, pesquisa, inovação tecnológica
- Centros de Treinamento
 - preservação de material biológico
 - bioinformática e informática para biodiversidade
 - biosistemática e taxonomia
- Centros de Serviços Especializados
 - caracterização taxonômica e/ou tecnológica de material biológico
 - controle de qualidade de material biológico e testes de desafio (e.g., atividade antimicrobiana, biocorrosão, etc.)
 - depósito de material biológico inclusive para fins patentários

4.7. Novas empresas de base tecnológica

Nos últimos anos, diversas empresas de alta tecnologia foram criadas. Estas empresas se valem de tecnologias proprietárias utilizadas para bioprospecção genômica, baseadas na construção de bibliotecas de genes microbianos e metagenoma, incluindo genomas de organismos ainda não-cultivados. Estas bibliotecas são fontes de soluções inovadoras para o desenvolvimento de novos fármacos, melhoria de produtos agrícolas e desenvolvimento de processos químicos e industriais mais eficientes, custo-efetivos e de baixo impacto ambiental.

As tecnologias proprietárias permitem o isolamento rápido, clonagem e expressão de genomas derivados diretamente de amostras ambientais (metagenoma). Através da combinação de ensaios de triagem, seleção de alto desempenho e sistemas robóticos, estas empresas tem capacidade para isolar, expressar e sequenciar genes que codificam novos compostos com grande eficiência.

Estas abordagens tem permitido a geração novas moléculas para a indústria farmacêutica, agricultura e aplicações industriais em ordens de magnitude muitas vezes superiores à de geração de novos compostos pela biotecnologia tradicional, baseada no isolamento e cultivo dos organismos. A complexidade e novidade de moléculas bioativas de ocorrência natural pode exceder, nestes casos, a das bibliotecas de química combinatória.

A análise do perfil das novas empresas de base tecnológica tem demonstrado a internalização de tecnologias de ponta nas áreas de genômica, tecnologia de informação e robótica, que permitem a exploração de recursos biológicos de forma inovadora e com alto desempenho. As grandes corporações de biotecnologia, principalmente as indústrias farmacêuticas, passaram a subcontratar as pequenas e médias empresas de alta tecnologia como fonte de novas moléculas para desenvolvimento de novos produtos. Como consequência, setores tradicionalmente envolvidos no isolamento e cultivo de microrganismos nestas indústrias de grande porte tem sido remodelados ou fechados.

5. Recomendações

A consolidação da capacidade institucional, com investimento na formação de recursos humanos, associado ao apoio a projetos integrados e consórcios temáticos em microbiologia e estudos da biodiversidade microbiana contribuirão para o cumprimento dos compromissos assumidos na ratificação da Convenção da Diversidade Biológica, fortalecendo o Programa Nacional para o uso sustentável da diversidade microbiana. Com efeito, os artigos 7 ("identificação e monitoramento"), 8 e 9 ("conservação *ex-* e *in-situ*"), 10 e 11 ("utilização sustentável de componentes da diversidade biológica" e "incentivos"), 15 e 16 ("acesso a recursos genéticos" e "acesso e transferência de tecnologia"), 12 e 18 ("pesquisa e treinamento" e "cooperação técnica e científica"), 13 e 17 ("educação

e conscientização pública" e "intercâmbio de informações") e 19 ("gestão da biotecnologia e distribuição de seus benefícios") dependerão do desenvolvimento das ações e estratégias governamentais (Kirsop, 1998). Algumas propostas são explicitadas neste documento.

As principais lacunas existentes no País, que dificultam o atendimento dos compromissos assumidos com a Convenção da Diversidade Biológica e que limitam o conhecimento pleno sobre a diversidade microbiológica, estão indicadas no relatório do "Levantamento do Estado do Conhecimento sobre a Biodiversidade", realizado pelo Ministério do Meio Ambiente e Probio (MMA, 2001). Dentre as lacunas identificadas neste levantamento, destacamos a seguir os tópicos principais relacionados à diversidade microbiana.

Recomenda-se que um Programa Nacional seja implementado de forma a estimular interações interdisciplinares, novas iniciativas taxonômicas e o gerenciamento integrado de dados (Tabela 3).

Tabela 3. Quadro sumário das lacunas científicas e tecnológicas, metas e estratégias de desenvolvimento para biotecnologia microbiana.

Lacunas	Metas	Estratégias
Capacidade Institucional, Infraestrutura e Recursos Humanos	Estabelecimento de uma rede integrada de laboratórios, centros de recursos biológicos e centros tecnológicos	Apoio à infraestrutura de laboratórios, coleções e centros de pesquisa temáticos.
	Programa induzido de formação de recursos humanos	Apoio a programas de pós-graduação no país, e programas induzido de formação de doutores no exterior. Apoio a cursos de curta duração no país.
Integração de Projetos Científicos e Tecnológicos	Estabelecimento de consórcios temáticos para pesquisa e prospecção biotecnológica	Realização de Workshops para definição de estratégias.
		Editais específicos para projetos científicos temáticos integrados.
Redes de Informações e Bases de Conhecimento	Estabelecimento de redes temáticas sobre diversidade microbiana e capacitação institucional/recursos humanos	Editais específicos para projetos tecnológicos (tipo PADCT/CDT).
		Definição de padrões mínimos para dados.
		Metadados.
		Interoperabilidade de sistemas.

5.1. Consolidação da capacidade institucional

A coleta, identificação e o monitoramento da diversidade microbiana é possível graças ao desenvolvimento de técnicas laboratoriais avançadas de sistemática e ecologia microbiana. No entanto, a infraestrutura existente nas Universidades e Institutos de Pesquisa brasileiros têm capacidade limitada para tal, dada a vasta diversidade destes organismos nos ecossistemas tropicais. Esta limitação é ainda mais acentuada na região Norte, Nordeste e Centro-Oeste, onde concentram-se os ecossistemas pertencentes aos biomas Floresta Amazônica, Cerrados e Pantanal, altamente diversos e ainda inexplorados. Nota-se que a maior parte dos poucos trabalhos de caracterização da biodiversidade microbiana destas regiões é realizada nas Instituições e Universidades das regiões Sudeste e Sul. Algumas das exceções são o INPA (Manaus), Instituto Evandro Chagas (Belém), Universidade Federal de Pernambuco, Universidade de Brasília e as unidades descentralizadas da Embrapa (CPATU, CPAC, CENARGEN e CNPAF), situadas nas regiões Norte e Centro-Oeste.

Há necessidade de melhorar a infra-estrutura dos laboratórios de sistemática e ecologia de microrganismos já existentes no país e implantar novos laboratórios em regiões carentes. Há necessidade também de aprimorar a formação de recursos humanos, aumentando o quadro, hoje bastante limitado, de cientistas realizando pesquisa em taxonomia, sistemática e ecologia de microrganismos. Não há no País hoje cursos de pós-graduação ou aperfeiçoamento voltados para a atualização de cientistas nas mais recentes inovações tecnológicas aplicadas ao estudo da biodiversidade microbiana.

5.2. Apoio a projetos integrados

Os projetos de pesquisa científica voltados para a investigação da biodiversidade microbiana realizados no País são, em sua maioria, iniciativas isoladas de pesquisadores ou Instituições de Pesquisa. Muitas vezes, o mesmo problema em um mesmo bioma é estudado por vários grupos de pesquisa, mas de forma não-integrada. Em consequência, há dificuldades para comparar e integrar os diversos resultados de pesquisa devido à incompatibilidade de delineamentos experimentais, metodologias de coleta e de análise de dados. Além disso, os dados são coletados de forma empírica e pouco detalhada, impossibilitando a integração e realização de estudos biogeográficos e ecológicos. Na grande maioria dos casos, amostras coletadas e microrganismos isolados e caracterizados não preservados em coleções de referência permanentes, impossibilitando, portanto, o desenvolvimento de estudos posteriores visando o desenvolvimento científico e tecnológico.

Faltam iniciativas integradas e interdisciplinares direcionadas a investigar as interações entre a microbiota e biosfera, efeitos das mudanças globais (de origem natural e antrópica) e relações inter-específicas no ambiente. Estes estudos devem contemplar não só levantamentos taxonômicos da diversidade de

espécies, mas também avaliar os aspectos de diversidade funcional e processos ecológicos associados à microbiota. Estudos desta natureza contribuirão decisivamente para o conhecimento e o uso da diversidade microbiana para fins biotecnológicos.

5.3. Estabelecimento de redes de informação especializadas

São poucas as iniciativas de integração dos dados existentes sobre a biodiversidade microbiana em bases de dados e redes temáticas conectadas via Internet. A organização e acesso à informação sobre biodiversidade microbiana são requisitos fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de inovação em biotecnologia, conforme descrito anteriormente. É importante destacar que sistemas de informação para bioprospecção e biotecnologia deverão contemplar a integração de dados supra-específicos (e.g., clima, características ambientais, biogeografia, características tecnológicas, etc...) com as características infra-específicas do material biológico (e.g., genoma e expressão gênica).

5.4. Apoio ao estabelecimento de empresas emergentes de alta tecnologia

O apoio ao estabelecimento de empresas emergentes de alta tecnologia é fundamental para a transferência do conhecimento científico para os setores associados à inovação tecnológica. Isto trará novas oportunidades para que estas empresas de pequeno porte e alta tecnologia possam agregar valor à diversidade microbiana brasileira, permitindo que os contratos com as empresas de grande porte, nacionais e internacionais, sejam feitos em bases mais vantajosas para o país. Isso abrirá novas oportunidades para incorporação de recursos humanos altamente qualificados a serem treinados no Programa de Capacitação e gerados por outros programas já em andamento (e.g., genomas).

5.5. Apoio à consolidação da Rede Brasileira de Centros de Recursos Biológicos

Coleções de referência, centros depositários de material biológico associados a processos de patentes e coleções especializadas da diversidade microbiana terão um papel fundamental no desenvolvimento do Programa de Biotecnologia. Visando um salto qualitativo na capacitação para desenvolvimento da biotecnologia no país, as seguintes metas devem ser consideradas:

- estabelecer uma rede integrada de laboratórios de sistemática, ecologia microbiana e biotecnologia, centros de recursos biológicos, centros de informação e pequenas empresas de alta tecnologia para fomentar o uso biotecnológico de microrganismos e material biológico.
- estabelecer um programa induzido de formação de recursos humanos voltados para sistemática aplicada, inovação em ecologia microbiana, bioprospecção e utilização biotecnológica de microrganismos.

- estabelecer consórcios temáticos de pesquisa tecnológica em bioprospecção, com investimentos do setor privado no País, integrando redes distribuídas de seleção e triagem de enzimas, metabólitos secundários, produtos farmacológicos, num esforço voltado para desenvolvimento de produtos.
- estruturar redes temáticas de informação e pesquisa em diversidade microbiana (e.g., bactérias, fungos, leveduras), integradas a grupos atuantes em levantamentos e inventários de diversidade de fauna e flora já atuantes no país.

As interações interdisciplinares serão fundamentais para:

- estimular a participação de biólogos, ecólogos, químicos e especialistas em informação em projetos de pesquisa associados a biodiversidade microbiana e sua função em ecossistemas;
- catalisar o emprego de conceitos e técnicas de biologia molecular em estudos de biodiversidade de microrganismos;
- evidenciar a importância econômica da biota microbiana no meio ambiente, e apoiar a revisão e síntese do valor direto e indireto das comunidades microbianas para a sustentabilidade.

As novas iniciativas taxonômicas serão essenciais para:

- apoiar a análise e síntese de informações taxonômicas, ecológicas e biogeográficas da microbiota visando a identificação de espécies de importância econômica e suas funções no ambiente, indicadores de sustentabilidade e avaliação da perda de espécies e descoberta de novas espécies ainda não descritas para a ciência;
- estimular a ampliação do número de especialistas em fisiologia e ecologia microbianas.

Deve ser realizado um levantamento e diagnóstico visando subsidiar o fortalecimento das seguintes atividades:

- estabelecer estratégias inovadoras na formação e aperfeiçoamento de especialistas em diferentes níveis, incluindo graduação, pós-graduação (mestrado no país, doutorado pleno no exterior, doutorado sanduíche) e cursos de curta duração de treinamento e aperfeiçoamento no país com a participação de especialistas internacionais;
- priorizar o treinamento envolvendo metodologias inovadoras como o emprego de técnicas moleculares e genômica funcional;
- estimular o desenvolvimento de novos métodos que incorporem os recentes avanços tecnológicos para a detecção, amostragem, coleta, cultivo e identificação de microrganismos;
- estimular o depósito de amostras, espécimes, seqüências, dados e imagens de microrganismos cultiváveis em acervos científicos e coleções de serviços e referência;
- estimular o gerenciamento e disseminação de dados de coleções via Internet.

O gerenciamento integrado de dados deverá ter como meta:

- incorporar informações taxonômicas e ecológicas nos modelos de bases de dados no início dos programas e projetos de pesquisa;
- desenvolver protocolos de gerenciamento de informações de forma a permitir a associação de dados sobre processos ecológicos com dados de biodiversidade (seqüências, taxonomia, características de linhagens e espécimes, funções na natureza, etc.);
- desenvolver padrões mínimos e metadados para a organização da informação sobre processos ecológicos de forma a facilitar a descrição de ecossistemas e gerenciamento das informações;
- estabelecer uma rede na Internet dedicada a biodiversidade microbiana, com bases de dados sobre protocolos de metodologias, repositórios de amostras e seqüências, biblioteca virtual com apontadores para documentos e eventos importantes, chaves taxonômicas com imagens, material para educação e treinamento e um serviço de apoio e informações.

6. Estratégias

6.1. Diagnóstico da capacidade institucional e detalhamento da estratégia nacional

Este diagnóstico visa o levantamento completo da capacidade instalada e recursos humanos disponíveis no País para o estudo e uso da biodiversidade microbiana. A base de informações deste levantamento poderá contemplar a integração e complementação de bases de dados já existentes no país, como o Cadastro de Pesquisa e Currículo Lattes do CNPq.

O diagnóstico deve também contemplar os desenvolvimentos da biotecnologia microbiana no cenário internacional, com especial atenção às novas abordagens empregadas por empresas de alta tecnologia para a utilização de recursos biológicos microbianos e definição de tendências corporativas no cenário empresarial.

Este diagnóstico deverá subsidiar a elaboração de um plano estratégico de apoio a programas e projetos de pesquisa integrados e consórcios tecnológicos para exploração biotecnológica da biodiversidade microbiana.

Este levantamento deve ser realizado de forma integrada e colaborativa com as sociedades científicas atuantes no setor (e.g., Sociedade Brasileira de Microbiologia).

Prazo: segundo semestre de 2001, duração de 6 meses

Atividades: levantamento, análise e processamento de dados, incluindo visita às instituições e reuniões do grupo de trabalho para análise e síntese dos dados e delineamento da estratégia nacional.

Custo estimado: R\$ 60.000

6.2. Capacitação de recursos humanos

Esta estratégia deverá ser implementada através de programas induzidos visando a formação de recursos humanos especializados e pessoal de apoio técnico voltados para o conhecimento e exploração da biodiversidade microbiana. As definições de áreas estratégicas deverão ser embasadas nos levantamentos de capacitação no país e poderão ser complementadas por dados de levantamentos internacionais (Hawksworth & Ritchie, 1993). Estes programas deverão possibilitar um aumento significativo do número de bolsas e recursos de bancada oferecidos para cursos de pós-graduação e extensão, incluindo:

- Mestrado e Doutorado no país
- Doutorado Sanduíche e Doutorado pleno no exterior (continuidade e ampliação do Programa Induzido do CNPq já existente)
- Cursos de aperfeiçoamento de curta duração no país

6.3. Workshops para definição de estratégias

Workshop 1) Proposta de um programa nacional para exploração biotecnológica da diversidade microbiana

Objetivo: Ampliar a discussão do plano estratégico com a comunidade científica e empresarial.

Data provável: primeiro semestre de 2002

Custo previsto: R\$ 60.000

Workshop 2) Tecnologias e estratégias para bioprospecção, seleção e triagem de microrganismos de interesse industrial

Objetivo: Exploração de alianças estratégicas para estabelecimento e desenvolvimento de consórcios tecnológicos.

Data provável: segundo semestre de 2002

Custo previsto: R\$60.000

6.4. Estabelecimento de redes temáticas especializadas e integradas

Deverá ser dado ênfase à estruturação de redes temáticas na Internet de pesquisadores e informações, conectando bancos de dados, listas de discussão e bases de informação de projetos de pesquisa, nos seguintes tópicos:

- diversidade microbiana: incluindo sub-redes especializadas por grupos microbianos (fungos, leveduras, bactérias, etc.)
- enfoques de pesquisa e atuação temática: ecologia, genômica, bioprospecção, acervos especializados e aplicações tecnológicas

Custo: a ser definido.

6.5. Estabelecimento de Centros Temáticos

Centros de apoio à biotecnologia, incluindo Coleções de Referência, Coleções de Recursos Biológicos e Laboratórios de Serviços Especializados (e.g., caracterização taxonômica) deverão ser estruturados na forma de uma rede distribuída e integrada.

Essa ação deverá priorizar projetos de pesquisa integrados e interdisciplinares que enfoquem a elucidação das relações entre biodiversidade funcional, taxonômica e processos biogeoquímicos, definição de bioindicadores de qualidade e sustentabilidade de ecossistemas, desenvolvimento de metodologias e protocolos de coleta e estruturação e ampliação de bases de conhecimento e acervos especializados em biodiversidade microbiana.

Custo: a ser definido.

6.6. Programas de apoio a consórcios de biotecnologia

Esta ação deverá ser elaborada tendo como modelos programas já existentes, tais como o PADCT/CDT (projetos de plataforma tecnológica) e programas PIPE/PITE FAPESP, fomentando a interação de grupos de pesquisa e setor produtivo. Nestes programas, as empresas privadas deverão investir no desenvolvimento de tecnologia com contrapartida de investimentos governamentais para a pesquisa aplicada em biotecnologia. O envolvimento do setor produtivo nas primeiras etapas do processo é uma estratégia eficiente para o garantir o direcionamento do desenvolvimento de bioprospecção voltado para o mercado e produtos.

Custo: a ser definido.

7. Prioridades

Visando atingir resultados tangíveis a curto e médio prazo (3 a 10 anos) é necessário alocar recursos de forma a viabilizar diversas ações.

7.1. Prioridades Imediatas (2001-2002)

1. Consolidação do Plano Estratégico e análise crítica dos desafios, oportunidades e benefícios associados à implementação de um programa nacional. Detalhar cronograma e estimativa de custos para as atividades a serem desenvolvidas. Sugerimos que sejam realizadas duas reuniões presenciais de um grupo de trabalho para atender esta prioridade.
2. Indução de capacitação de recursos humanos nos seguintes tópicos prioritários:

- sistemática molecular e taxonomia polifásica
 - genômica funcional
 - ecofisiologia microbiana e ciclos biogeoquímicos
 - biogeografia, dinâmica de populações e modelagem
 - bioprospecção, seleção e triagem de microrganismos de interesse industrial.
3. Realização de dois workshops visando estabelecer:
 - alianças estratégicas para projetos científicos e tecnológicos.
 - projetos multinacionais no âmbito da CDB, com recursos do GEF.
 4. Estabelecimento de Redes Temáticas Integradas

7.2. Prioridades de Médio Prazo (3-5 Anos)

1. Estabelecimento de centros temáticos de pesquisa e tecnologia (aos moldes dos centros NSF) e apoio a consórcios temáticos, priorizando as seguintes abordagens:
 - emprego de metodologias inovadoras e protocolos padronizados de amostragem.
 - integração de dados científicos e tecnológicos e disponibilização através de redes informatizadas.
 - enfoque no estudo de grupos funcionais, espécies chave e estrutura de comunidades e taxa de interesse tecnológico
2. Estabelecimento de consórcios e incubadoras de empresas de base tecnológica priorizando atividades de:
 - bioprospecção
 - seleção e triagem (*screening*) de microrganismos de interesse industrial e ambiental
 - prestação de serviços especializados e consultorias.

7.3. Prioridades de Longo Prazo (5 a 10 Anos)

1. Consolidação das redes integradas de diversidade microbiana composta de:
 - centros temáticos de pesquisa e tecnologia
 - coleções de referência (culturas tipo e espécimes para estudos taxonômicos) e Centros de Recursos Biológicos (CRB's)
 - laboratórios de serviços especializados (sequenciamento, sistemática aplicada)
 - empresas de alta tecnologia em bioprospecção molecular e laboratórios provedores de serviços especializados.

8. Referências

- Bruggeman, T. J. 1998. Innovations in drug discovery and development. *BioPharm*, 11(7).
- Bull, A. T.; Marrs, B.L. & Kurane, R. 1998. Biotechnology for clean industrial products and processes. p. 1–200. *In: Towards industrial sustainability*. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- Bull, A. T.; Ward, A. C. & Goodfellow, M. 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3): 573–606.
- Colwell, R. 1997. Microbial diversity: the importance of exploration and conservation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 18:5, 302-307.
- Hammond, 1995. The current magnitude of biodiversity. *In: Global Biodiversity Assessment*. Heywood (Ed.). Cambridge, Cambridge University Press. p. 113-138.
- Hawksworth & Ritchie (Eds). 1993. Biodiversity and biosystematic priorities: microorganisms and invertebrates. CAB International.
- Hunter-Cevera, 1998. The value of microbial diversity. *Current Opinion in Microbiology* 1: 278-285.
- Hugenholtz, P. & Pace, N.R. 1996. Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. *Trends in Biotechnology*, 14: 190-197.
- Hugenholtz, P.; Goebel, B. M. & Pace, N. R. 1998a. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J. Bacteriology*, 180: 4765–4774.
- Hugenholtz, P.; Pitulle., C.; Hershberger, K. L. & Pace, N.R. 1998b. Novel division-level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. *J. Bacteriology*, 180: 366–376.
- ten Kate, K. 1999. Biotechnology in fields other than healthcare and agriculture, p. 228–261. *In ten Kate, K. & Laird, S. A. (eds.), The commercial use of biodiversity*. Earthscan Publications Ltd., London, U.K.
- ten Kate, K. & Laird, S. A. 1999. The commercial use of biodiversity. Earthscan Publications Ltd., London, U.K.
- Kirsop, B. 1998. The Convention on Biological Diversity and its Impact on Microbial Resource Centres. <http://www.bdt.org.br/oea/sib/barbara>.
- Larsen, N.; Overbeek, R.; Pramanik, S.; Schmidt, T. M.; Selkov, E. E.; Strunk, O.; Tiedje, J. M. & Urbance, J. W. 1997. Towards microbial data integration. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 18: 68–72.
- Manfio *et al.* 1998. Biodiversity: Perspectives and Technological Opportunities. Capítulo 9: Diversidade Microbiana e Desenvolvimento Sustentável (diversos documentos). <http://www.bdt.org.br/publicacoes/padctbio/cap9/>.
- Myers, 1996. Environmental services of biodiversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93(7): 2764-2769.
- NSF 1997. NSF Workshop on Systematics and Inventory of Soil Nematodes, Julho 1997. <http://www.nrel.colostate.edu/soil/sisn.html>.
- Olivieri, S. T.; Harrison, J. & Busby, J. R. 1995. Data and information management and communication, p. 611–670. *In: Heywood, V. H. (Ed.). Global biodiversity assessment*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Rondon, M. R.; Goodman, R. M. & Handelsman, J. 1999. The Earth's bounty: assessing and accessing soil microbial diversity. *TIBTECH* 17: 403-409.
- Schimel, 1995. Ecosystem consequences of microbial diversity and community structure. *Ecol. Stud.*, 113: 239-254.
- Staley, J. 1998. Microbial Diversity and the Biosphere. <http://www.bdt.org.br/oea/sib/staley>.
- Staley, J. T. & Gosink, J.J. 1999. Poles apart: biodiversity and biogeography of sea ice bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 53: 189–215.
- Tiedje, J. M. 1995. Approaches to the comprehensive evaluation of prokaryotic diversity of a habitat, p. 73–87. *In Allsopp, D.; Colwell, R.R. & Hawksworth., D. L. (Eds.), Microbial diversity and ecosystem function*. CAB International, Wallingford, U.K.
- Tiedje, J., Urbance, J.; Larsen, N.; Schmidt, T.; Strunk, O.; Pramanik, S.; Overbeek, R.; Martin, R. & Holt, J. 1996. Towards an integrated microbial database, p. 63–68. *In Samson, R. A.; Stalpers, J. A.; van der Mei, D. & Stouthamer, A. H. (Eds.), Culture collections to improve the quality of life*. CBS Publishing, Baarn, The Netherlands.
- Umezawa, H. 1972. Enzyme inhibitors of microbial origin. University of Tokyo Press, Tokyo, Japan.

Wei, J. 1999. The third paradigm: for the millennium. p. 1–5. *In*: Proceedings of the 8th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress, Seoul Korea.

WFCC 1998. WFCC Workshop on The Economic Value of Microbial Genetic Resources, Agosto 1998. http://wdcn.nig.ac.jp/wfcc/workshop_time.html.