DOCUMENTOS 366

Conservação de Recursos Genéticos Microbianos nas Coleções da Embrapa













Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento

DOCUMENTOS 366

Conservação de Recursos Genéticos Microbianos nas Coleções da Embrapa

Maria Cléria Valadares-Inglis Rogério Biaggioni Lopes Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Parque Estação Biológica PqEB, Av. W5 Norte (final) 70970-717 . Brasília. DF

Fone: +55 (61) 3448-4700 Fax: +55 (61) 3340-3624

www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações da Unidade Responsável

Presidente
Marília Lobo Burle

Secretária-Executiva Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros

Antonieta Nassif Salomão; Bianca Damiani Marques Silva; Diva Maria Alencar Dusi; Francisco Guilherme V. Schmidt; João Batista Tavares da Silva; João Batista Teixeira; Rosamares Rocha Galvão; Tânia da Silveira Agostini Costa

Supervisão editorial Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto João Batista Teixeira

Normalização bibliográfica Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Tratamento das ilustrações Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica Adilson Werneck

Foto da capa Claudio Bezerra

1ª edicão

1ª impressão (ano): tiragem

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Valadares-Inglis, Maria Cléria.

Conservação de Recursos Genéticos Microbianos nas Coleções da Embrapa. / Maria Cléria Valadares-Inglis; Rogério Biaggioni Lopes – Brasília - DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019.

28 p. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, ISSN 0102-0110 ; 366).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web:

1. Microrganismo. 2. Coleção. 3. Biodiversidade. I. Valadares-Inglis, Maria Cléria. II. Lopes, Rogério Biaggioni. III. Série. IV. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 577

Autores

Maria Cléria Valadares-Inglis

Bióloga, doutora em Genética Microbiana, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Rogério Biaggioni Lopes

Engenheiro agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Apresentação

As Coleções de Microrganismos representam um dos mais importantes patrimônios do país, cujo valor começa a ser mais bem percebido e valorizado pela sociedade. A evolução da compreensão do papel dos microrganismos tem fornecido subsídios para o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas e insumos, além de ser fundamental no estabelecimento de políticas de biossegurança, de projetos em agricultura sustentável e de programas de desenvolvimento industrial. A biodiversidade microbiana brasileira bem conservada e caracterizada representa importante fonte de variabilidade genética, e proporciona estoques de material para uso em diversos programas de interesse da sociedade.

O presente documento apresenta resumidamente a importância desses organismos para a agricultura, a agroindústria e o meio ambiente e os esforços envidados pela Embrapa na conservação desses importantes recursos genéticos nacionais para gerações futuras. Como enfatizado pelos autores: "O grande desafio ainda é coletar, identificar, caracterizar, conservar e documentar os recursos genéticos microbianos representativos dos diferentes biomas brasileiros, considerando áreas cultivadas e áreas nativas. O grande desafio das Coleções Microbianas da Embrapa se apresenta como a necessidade de ampliar a coleta, conservação e caracterização de microrganismos de importância agrícola oriundos dos biomas Caatinga e Amazônia, cujos acessos ainda são pouco representativos da diversidade microbiana das regiões norte e nordeste. Outro desafio da conservação da biodiversidade microbiana e dos recursos genéticos reside principalmente na existência de microrganismos não cultiváveis ou de difícil cultivo, cuja perda e/ou extinção não pode ser mensurada. O desenvolvimento e a implementação de métodos de conservação de amostras diversas, contendo microrganismos e coletadas diretamente no ambiente, surgem como desafios para a conservação ex situ. O uso de metagenômica, para a avaliação da diversidade microbiana em diferentes biomas e em áreas protegidas e cultivadas, exige investimentos e capacitação de instituições de P&D no país, em um esforço integrado.

O melhor conhecimento da diversidade microbiana, em um país de mega biodiversidade como o Brasil, pode resultar em avanços significativos em diversas áreas da agropecuária, agroindústria, saúde, meio ambiente, e outras."

Boa leitura a todos!

José Manuel Cabral de Sousa Dias Chefe Geral

Sumário

1. Biodiversidade Microbiananº 09
2. Conservação de Recursos Genéticos Microbianosnº 11
3. Coleções Microbianas da Embrapanº 13
3.1. Conservação e identificação dos recursos genéticos microbianosnº 13
3.2. Disponibilidade dos dados e amostrasnº 17
4. Relevância dos Recursos Genéticos Microbianosnº 18
5. Limitações
6. Acompanhamento/Avaliação de políticas, programas e normas ambientais e legislações pertinentesnº 21
7. Subsídios a Convenções, Acordos e Iniciativas internacionais globais/regionaisnº 22
8. Tendência e Desafiosnº 23
9. Referências bibliográficas

1. Biodiversidade Microbiana

A diversidade microbiana é estimada como sendo muito superior à diversidade de plantas e animais. A quantificação da diversidade microbiana é frequentemente arbitrária uma vez que características morfológicas e/ ou funcionais são indistinguíveis, mesmo com o uso de microscópios, considerando também que até organismos distantemente relacionados podem exercer as mesmas funções ecológicas. Ferramentas moleculares permitem avaliar uma grande quantidade de microrganismos, gerando informações relacionadas a agrupamentos com diferentes funções ecológicas através de uma contextualização ambiental. Nas últimas décadas, ecologistas microbianos têm utilizado ferramentas moleculares para caracterização de comunidades microbianas, permitindo estimar a diversidade microbiana em aproximadamente 5,6 bilhões, a partir de avaliações de unidades taxonômicas operacionais (OTU), o que equivale a filotipo (Gibbons; Gilbert, 2015). Os microrganismos estão presentes em todos os ambientes exercendo diversas funções. Estão associados às plantas e aos animais, são utilizados no processamento de alimentos, em processos de biorremediação de ambientes contaminados, sendo também utilizados como biopesticidas no controle de pragas de importância agrícola.

Os microrganismos estão associados às plantas de várias maneiras e podem atuar como fixadores de nutrientes, promotores de crescimento ou agentes causadores de doenças. Associações benéficas entre microrganismos e plantas envolvem principalmente fungos e bactérias provenientes do solo. Relações simbióticas também podem ocorrer, estando presentes nas várias partes das plantas. Os benefícios da fixação biológica de nutrientes por micróbios promotores do crescimento de plantas têm sido amplamente estudados e explorados no Brasil (Fukami et al., 2018; Kaschuk et al., 2010, 2011). A fixação biológica de nutrientes é fundamental para sistemas agrícolas sustentáveis em solos tropicais e é uma das estratégias para facilitar a agricultura de baixo carbono, ajudando a mitigar a mudança climática (Kaschuk et al., 2011), e cumprindo os compromissos para reduzir as emissões de gases de efeito estufa. A grande biodiversidade microbiana que está presente nos agroecossistemas é amplamente desconhecida e acredita-se que sistemas de produção mais diversos, como sistemas de plantio direto ou sistemas agroflorestais, são vantajosos em comparação com culturas convencionais, com benefícios para a biodiversidade do solo e maior eficiência na conversão de energia em biomassa e em matéria orgânica para o solo.

Microrganismos sempre foram usados no processamento de alimentos, como a fermentação de massa em pão, leite em queijo, compostagem ou usados diretamente como fonte de alimento, como cogumelos comestíveis.

Assim como uma fonte de proteína, microrganismos e seus componentes celulares, como lipídios (óleo de célula única), sacarídeos, carotenoides, provitaminas e aminoácidos essenciais podem ser valiosos para o crescente domínio de novas fontes. Para que as proteínas microbianas se tornem uma alternativa importante e sustentável como alimento, os desafios de criar consciência e alcançar aceitação pública e ampla da regulamentação são reais e precisam ser abordados com cuidado e conveniência (Bhalla et al., 2009). Embora o uso de microrganismos como alimentos e rações tenha existido por séculos, a aplicação de bactérias, leveduras, algas ou fungos como fontes protéicas evoluiu nos anos 60 com a definição de proteína de célula única (SCP), com produtos chegando ao mercado na década de 80. A interface da produção de SCP com processamento de alimentos é bem compreendida, e as indústrias começaram a desenvolver métodos de cultivo de organismos em matérias-primas alternativas, como alcanos, bagaco, resíduos cítricos, resíduos de sulfito, melaco, esterco animal, soro de leite, amido, esgoto etc. A escolha do substrato envolve viabilidade econômica, abundância e proximidade das fontes de produção, onde os processos de produção de biomassa microbiana geralmente envolvem a fermentação de resíduos da indústria agroalimentar. Assim, ambas as sessões estão relacionadas com a fermentação.

A biorremediação é um processo não invasivo e ecológico, muitas vezes mais barato que os métodos convencionais. É uma solução permanente que pode terminar com a degradação ou transformação de contaminantes ambientais em formas inofensivas ou menos tóxicas. A biorremediação com microrganismos utiliza os métodos de atenuação natural, bioestimulação e bioaumentação. O landfarming é uma das técnicas de remediação de solo mais amplamente utilizadas, escavando solos contaminados e espalhando o material em uma fina camada na superfície do solo. Este método promove a atividade microbiana aeróbica, é barato e é eficaz para contaminantes facilmente biodegradáveis. Outros métodos, como o uso de microrganismos sob condições termofílicas e aeróbicas em um processo biológico controlado. permitem a biorremediação de solos. A biorremediação também é um processo ecologicamente correto para tratar solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, solventes, clorofenóis, pesticidas, herbicidas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e derivados nitro-aromáticos (Dzionek et al., 2016). Muitas outras estratégias de biorremediação, com o objetivo de restaurar o solo usando microrganismos, estão disponíveis para uso em terras agrícolas. Há um grande número de microrganismos associados à saúde animal. Muitas bactérias, fungos e vírus causam doenças em vacas, galinhas, suínos e outros animais domesticados importantes usados na agricultura. Outros microrganismos desempenham um papel importante na dieta dos animais e na absorção de alimentos. Diversos microrganismos, como bactérias,

protozoários e fungos, estão presentes em uma relação simbiótica com animais ruminantes. Os microrganismos do rúmen contribuem de muitas outras formas para a nutrição e podem sintetizar proteínas a partir de compostos inorgânicos de nitrogênio, como sais de amônio (McFall-Ngai et al., 2013). A adição de microrganismos à alimentação animal ajuda o processo de fermentação. Estudos da biodiversidade microbiana podem fornecer uma compreensão dos benefícios da relação simbiótica e podem ser manipulados para melhorar a nutrição animal.

Microrganismos são utilizados no controle biológico de pragas de importância para a agricultura. As perdas de alimentos aumentam devido aos danos causados por pragas sendo que os gastos anuais para o controle de insetos com pesticidas químicos são muito altos (Chattopadhyay et al., 2017). A busca de alternativas sustentáveis para a produção de alimentos com redução de impacto ambiental, principalmente redução de pesticidas químicos, vem expandindo os trabalhos de controle biológico (Boulton; Heimpel, 2017).

Controle microbiológico de invertebrados, doenças de plantas e plantas invasoras vêm aumentando em todo o mundo. Nos últimos quinze anos, o Brasil fez grandes avanços no uso de agentes de controle biológico na substituição total ou parcial de pesticidas químicos como parte de programas integrados de manejo de pragas em vários sistemas de cultivo. Os programas reconhecidos incluem a adoção generalizada de parasitoides e predadores contra insetos e ácaros e microrganismos, incluindo vírus, contra pragas e doenças de plantas (Bettiol, 2011; Moscardi, 1999).

Atualmente, parte da diversidade microbiana no Brasil é mantida em Coleções de Cultura, representando um importante recurso genético e fornecendo estoques de material para uso em programas de pesquisa e desenvolvimento (Pylro et al., 2014). A manutenção de coleções de referência de patógenos de plantas e de pragas de culturas de invertebrados também é importante para fins de quarentena.

2. Conservação de Recursos Genéticos Microbianos

As Coleções de Microrganismos surgiram inicialmente como suporte básico para o avanço dos estudos em microbiologia, nas áreas de taxonomia e epidemiologia. Nas últimas décadas, com os avanços do conhecimento nas áreas de bioquímica, fisiologia celular e, principalmente, de genética molecular, notou-se uma especialização das coleções, direcionadas aos microrganismos com potencial tecnológico e ambiental. O interesse na manutenção desses organismos ganhou mais força quando as coleções passaram a ser vistas

também como uma base de oferta de genes, proporcionando infinitas possibilidades de aplicação em diferentes áreas do conhecimento.

A conservação de recursos genéticos microbianos, a médio e longo prazo em coleções ex situ representa uma fonte confiável de recursos genéticos, com potencial de uso na agropecuária e agroindústria. Diferentes métodos permitem conservar amostras de fungos, vírus, bactérias, microalgas e outros organismos cultiváveis, para uso em diferentes processos, garantindo a redução da perda da diversidade microbiana. Nematoides fitoparasitas, apesar de não serem microrganismos, estão organizados dentro das Coleções como Recursos Genéticos Microbianos. Assim como é essencial à conservação da biodiversidade microbiana, a agregação de valor ao material mantido nas Coleções de Culturas tem grande importância para o desenvolvimento de novos processos e produtos tecnológicos. A caracterização dos acessos, feita frequentemente em parceria com diferentes grupos em projetos de pesquisa, também vem assumindo espaço na rotina dos bancos de germoplasma microbiano. Informações básicas sobre as características das linhagens conservadas auxiliam na seleção inicial ou divisão em grupos com funções desejadas. Estudos de atividade biológica, crescimento e reprodução, produção de compostos (enzimas, proteínas, toxinas, voláteis etc) e caracterizações genéticas estão entre os mais aplicados.

O principal componente das coleções microbianas é o número de acessos preservado em coleções a médio e longo prazo, de forma viável, dentro de padrões de qualidade e segurança. Acessos referem-se a linhagens, cepas, isolados, estirpes ou outras formas de microrganismos cultiváveis.

O número de acessos preservados pode ser considerado um indicador indireto da diversidade de microrganismos cultiváveis, importantes na agropecuária e agroindústria, com potencial impacto na bioeconomia. A preservação e a disponibilização destes recursos estão associadas ao fornecimento de informações para programas de pesquisa e desenvolvimento, permitindo a geração de insumos de importância para inovação na proteção de plantas e animais, desenvolvimento de biopesticidas e biofertilizantes, uso na indústria de alimentação e biorremediação ambiental, dentre outros. Os dados das coleções microbianas são relevantes como facilitadores do monitoramento da diversidade microbiana preservada e acessível, permitindo o estabelecimento de estratégias de conservação e o uso de microrganismos. O número de acessos de cada coleção deve ser interpretado a partir dos dados de passaporte que permitem ajustes e correções de duplicatas.

3. Coleções Microbianas da Embrapa

3.1. Conservação e identificação dos recursos genéticos microbianos

Os recursos genéticos microbianos conservados a médio e longo prazo se referem a Coleções da Embrapa mantidas em vinte e duas Unidades Descentralizadas, distribuídas em todas as regiões geográficas do Brasil (Figura 1). A maioria das linhagens mantidas nas coleções originase do território nacional, no entanto, amostras de outros países obtidas por intercâmbio com diferentes instituições são também mantidas nas Coleções da Embrapa (Tabela 1).

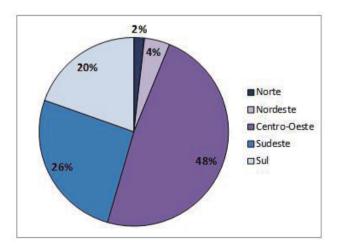


Figura 1: Porcentagem de linhagens de microrganismos mantidos em Coleções da Embrapa, por região geográfica brasileira. (Fonte: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Portal Alelo acessado em 06/12/2018)

Tabela 1: Número de acessos em Coleções *ex-situ* de microrganismos da Embrapa

BANCO BIOLÓGICO / GRUPOS FUNCIONAIS	NÚMERO DE AMOSTRAS (2018)
CRB Agentes de Controle Biológico de Pragas	
Bactérias de Invertebrados	2.772
Cogumelos de Uso Humano	245
Coleção de Microrganismos de Interesse ao Controle Biológico de Pragas	249
Fungos de Invertebrados	1.407
Microrganismos para o Controle de Fitopatógenos e Plantas Daninhas	1.453
Vírus de Invertebrados	131
CRB Johanna Döbereiner: Bactérias Diazotróficas e O Microrganismos Multifuncionais	
Bactérias Diazotróficas Associativas e Endofíticas	4.454
Fungos Micorrízicos Arbusculares	110
CRB Microrganismos Multifuncionais de Importância À Ambiental	Agrícola e
Coleção de Fitopatógenos de Interesse Agronômico	27
Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado	389
Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental	1.069
Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias	31
CRB Microrganismos Multifuncionais: Bactérias Diazo Promotoras de Crescimento Vegetal	tróficas e
Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Agropecuária Oeste	3.341
Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Cerrados	354
Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Soja	1.522
Coleção de Invertebrados da Embrapa	
Coleção de Nematoides de Importância Agrícola	4
Coleção de Nematoides do Gênero Meloidogyne	306
Coleção de Microrganismos Fitopatogênicos	
Fitopatógenos de Importância Quarentenária	253
Microrganismos Multifuncionais e Fitopatógenos	16.153
Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopato	gênicos
Bactérias Entomopatogênicas	4.710
Fitopatógenos de Milho e Sorgo	1.351
Microrganismos Promotores de Crescimento	2.387

Leveduras de Interesse Agroindustrial	3.260	
Microrganismos de Interesse na Indústria de Alimentos e Agroenergia	112	
Coleção de Microrganismos de Interesse para Avicultura Suinocultura	ı e	
Microrganismos de Interesse para Avicultura e Suinocultura	2.026	
Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agroind Pecuária	ústria e	
Microrganismos Patogênicos a Caprinos e Ovinos	134	
Microrganismos de Interesse para Agroindústria Tropical	218	
Microrganismos do Agronegócio do Leite	1.762	
Coleções Não Formalizadas de Trabalho da Embrapa		
Coleção de Bactérias CNPAT	20	
Coleção de Fungos CNPAT	104	
Coleção de Leveduras CNPAT	11	
	123	
Coleção de Microrganismos de Interesse Agrícola da Embrapa Semiárido	H. 14.004	
	115	
Embrapa Semiárido Coleção de Microrganismos presentes no Biofertilizante	115 410	

Fonte: AleloMicro – base de dados completa - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, informações inseridas pelos curadores das Coleções na referida base de dados até julho 2018.

As Coleções de Microrganismos na Embrapa receberam maior atenção nas últimas décadas, devido principalmente ao aumento da importância desses organismos para a agricultura e o meio ambiente, seja na forma de produtos de uso direto pelo agricultor, bem como de processos na agroindústria e de biotecnologia. Esforços no sentido de organizar os bancos de germoplasma de forma conjunta ou unificada estão sendo feitos pela Embrapa com a criação de projetos em rede. Os recursos genéticos microbianos mantidos nessas Coleções apresentaram um crescimento bastante significativo. Apartir de 2009 houve um aumento crescente no número de linhagens incorporadas às coleções, tendo estes valores apresentado uma curva ascendente de crescimento ainda mais pronunciada após 2015, quando da criação do Portfólio de Projetos (REGEN). A conservação de recursos genéticos é atividade estratégica, sendo um dos pilares da missão da Embrapa, o que resulta em uma organização cujos resultados podem ser observados em valores quantitativos, tanto no que se refere à conservação

ex situ quanto na organização da informação sobre os recursos genéticos microbianos. A Figura 2 representa o número de linhagens mantidas em Coleções da Embrapa, no período de 1979 a 2018.

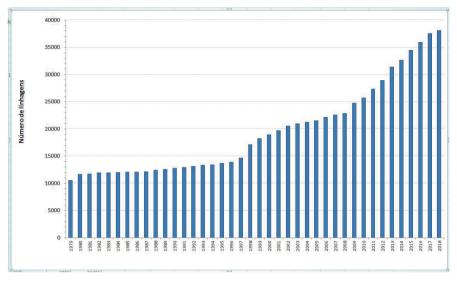


Figura 2: Número de linhagens de microrganismos mantidos em Coleções da Embrapa. Fonte: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Portal Alelo acessado em 06/12/2018.

A diversidade de gêneros, mantidos nas Coleções de Microrganismos da Embrapa, é bastante ampla, sendo estes distribuídos em pelo menos 100 famílias. A Figura 3 mostra os dados referentes às famílias de microrganismos mantidos nas Coleções Embrapa. As famílias com maior número de linhagens são Magnaporthaceae, seguida da Bacillaceae e Glomerellaceae (valores sobre as barras indicam o número total de linhagens dentro de cada família).

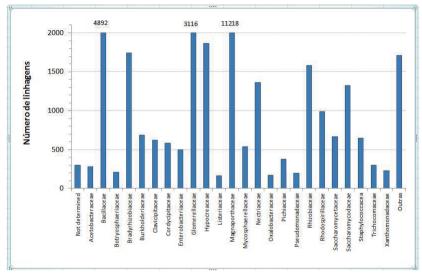


Figura 3: Famílias de microrganismos mantidos em Coleções da Embrapa. Fonte: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Portal Alelo Embrapa acessado em 06/12/2018. Obs: O valores acima das barras representam o total de linhagens para famílias com mais de 2000 acessos.

3.2. Disponibilidade dos dados e amostras

Os dados relativos às Coleções Microbianas da Embrapa estão disponíveis ao público para consulta online (Embrapa..., 2018b). O sistema AleloMicro conta com um banco de dados centralizado e com parte das informações disponibilizadas para acesso externo via Internet. A alimentação e manutenção das bases de dados são feitas de forma descentralizada pelos curadores de cada Coleção e outros profissionais responsáveis pela sua manutenção. Cabe ressaltar que o Sistema AleloMicro foi desenvolvido de modo a garantir a proteção da informação quanto à disponibilidade, integridade, confidencialidade e autenticidade de dados e informações inseridos. O acesso à base de dados e a algumas informações está disponível apenas internamente por senha pessoal, sem acesso para os usuários externos. A inserção de informações pelos Curadores requer autorização de acesso específica, após treinamento pela equipe responsável pelo Sistema AleloMicro, sendo que os campos relacionados à inserção de dados não podem ser modificados sem autorização prévia do curador. O administrador do Sistema AleloMicro tem acesso total aos dados inseridos, conferindo os

registros e solicitando ajustes aos curadores. Este responsável pode gerar relatórios específicos com dados não disponíveis online. Os dados são inseridos e/ou atualizados pelos Curadores das Coleções e a informação é disponibilizada em tempo real para a consulta por meio do banco de dados centralizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A decisão de liberação online de dados referentes às linhagens específicas de cada coleção é de responsabilidade dos curadores. Cópias de segurança dos dados e do sistema são feitas diariamente em servidores paralelos e semanalmente em disco rígido mantido em local distinto. Atualizações e melhorias no sistema são discutidas anualmente pela equipe de Tecnologia da linformação e usuários do sistema (curadores) em reuniões do Sistema de Curadoria da Embrapa. A disponibilização do Sistema AleloMicro, para que outras instituições possam. via Termo de Adesão assinado com a Embrapa, inserir informações sobre coleções microbianas, poderá ampliar as informações sobre a cobertura dos recursos genéticos microbianos, representativos dos diversos biomas, conservados em Coleções Microbianas em nível nacional.

Amostras de microrganismos das Coleções da Embrapa são disponibilizadas para instituições de ensino e pesquisa, bem como empresas públicas e privadas, mediante solicitação feita via AleloMicro e assinatura de contratos, convênios e acordos. Os instrumentos legais permitem a rastreabilidade das informações com vistas ao atendimento de legislações, tratados e acordos internacionais.

4. Relevância dos Recursos Genéticos Microbianos

Os recursos genéticos são parte da biodiversidade com potencial de uso atual ou futuro, garantindo matéria-prima para alimentação, agricultura, pecuária, silvicultura e agroindústria. Os microrganismos estão presentes em todos os ambientes e em diversas formas, atuando de forma benéfica ou causando efeitos negativos em animais, plantas e humanos, como já mencionados. A conservação de recursos genéticos microbianos em coleções funcionais (exemplo: bactérias, fungos e leveduras para bioprocessos, biossolubilização, alimentação, controle biológico de pragas, fixação de nitrogênio, promoção de crescimento de plantas, descontaminação de recursos hídricos e edáficos, melhoria da atividade ruminal etc.), coleções fitopatológicas (exemplo: agentes causais das principais doenças de importância econômica) e coleções de agentes patológicos de enfermidades animais, são fundamentais para garantia da segurança, da produção e geração de insumos para inovação e conseguente promoção da bioeconomia

mundial.

A importância dos recursos genéticos microbianos, na provisão de serviços ecossistêmicos, na agricultura sustentável e na segurança, vem sendo reconhecida e discutida pela Comissão de Recursos Genéticos para a Alimentação e Agricultura da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), desde 2007. Em 2017, a Comissão iniciou a preparação de um plano de trabalho para futuros estudos sobre o uso sustentável e a conservação de microrganismos e invertebrados.

O crescente interesse pela diversificação e agregação de valor à agropecuária e agroindústria, com impacto direto na forma de novos alimentos, fibras, aromas e diversas matérias-primas para a bioindústria, bem como redução de pragas agrícolas e animais, têm resultado na busca de microrganismos com potencial de aplicação nestas áreas. Além do uso de microrganismos em programas de melhoramento de plantas, como biopesticidas (microrganismos capazes de causar doenças em artrópodes pragas, controlar doenças de plantas e plantas daninhas), biofertilizantes (microrganismos capazes de fixar nitrogênio ou solubilizar rochas fosfatadas e potássicas) e biorremediadores (degradadores de metais e resíduos químicos no ambiente), estes organismos podem gerar ativos (enzimas e metabólitos secundários) com aplicações bioindustriais. Neste contexto, os microrganismos usados como biopesticidas, biofertilizantes e biorremediadores se tornam ferramentas estratégicas para o desenvolvimento de produtos agrícolas sustentáveis, sendo alternativas viáveis para solução de problemas relacionados à resistência de insetos a pesticidas guímicos tradicionais, além de reduzir a contaminação ambiental; evitar o emprego de fertilizantes produzidos a partir de fontes não renováveis de energia, como derivados de petróleo, ou por rotas mais nocivas ao ambiente; ou contribuir para a degradação de poluentes ambientais, uma vez que os microrganismos desempenham a tarefa de reciclar a maior parte das moléculas da biosfera, participando dos principais ciclos biogeoguímicos e representando, portanto, o suporte de manutenção da vida na terra.

Neste cenário, a coleta, identificação, caracterização, avaliação, conservação e documentação dos recursos genéticos microbianos necessitam de esforços concentrados de forma ordenada e estratégica, garantindo a conservação da biodiversidade microbiana ex situ. A conservação de amostras de microrganismos se torna relevante, diante da perda da diversidade microbiana tanto pelas ações de queimadas, enchentes, degradação do solo, quanto pelos efeitos das mudanças climáticas. Amostras conservadas em coleções microbianas podem ter significativo impacto na restauração de ecossistemas e no avanço da bioeconomia.

Emúltima análise, as Coleções ex-situ de microrganismos representam um dos mais importantes patrimônios do país, cujo valor e importância

começam a ser percebidos e valorados. A evolução da compreensão do papel dos microrganismos no meio ambiente tem fornecido subsídios para o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas, além de ser fundamental no estabelecimento de políticas de biossegurança, de projetos em agricultura sustentável e de programas de desenvolvimento industrial. O recurso genético microbiano bem conservado e caracterizado representa importante fonte de variabilidade genética, e proporciona estoques de material para uso em diversos programas de interesse da sociedade, como insumos baseados em microrganismos ou seus subprodutos, material biológico certificado, informações associadas e outros serviços que uma coleção pode prestar, como por exemplo, de taxonomia e identificação. Isto cria oportunidades para desenvolvimento de processos tecnológicos, de comercialização de serviços e de agregação de valor à biodiversidade brasileira.

5. Limitações

Os recursos genéticos microbianos mantidos em coleções não representam a biodiversidade em sua ampla dimensão (Vitorino; Bessa, 2018). Embora existam estimativas da diversidade microbiana, estes são feitos a partir de uma amostragem limitada aos organismos cultiváveis e mantidos em coleções. Muitos microrganismos não são cultiváveis e apesar do uso de técnicas como metagenômica, que utiliza amostras do ambiente para recuperação de material genético e análise de diversidade, os resultados são comparáveis somente com organismos conhecidos, deixando, portanto, de se analisar uma grande variedade de microrganismos ainda não conhecidos. A metagenômica também depende de sequências de genes disponíveis em bases de dados, inferindo na prévia e correta identificação do microrganismo identificado.

Assim, a correta mensuração da diversidade microbiana, a ser conservada em coleções, depende da análise e identificação correta dos microrganismos, o que em muitos casos, apesar de técnicas moleculares disponíveis para análises filogenéticas que permitam a identificação das espécies, ainda apresentam limitações de custo e mão de obra especializada. Alguns gêneros amplamente conhecidos ainda apresentam espécies pouco definidas em nível taxonômico.

6. Acompanhamento/Avaliação de políticas, programas e normas ambientais e legislações pertinentes

Em 1980, a Embrapa criou o Programa Nacional de Recursos Genéticos, constituindo a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia como a Unidade Coordenadora desse programa. No âmbito desse programa foi criada a primeira rede de Bancos Ativos de Germoplasma, constituída por projetos que desenvolviam as atividades de introdução, intercâmbio, coleta, avaliação, caracterização, conservação e documentação de germoplasma. O Programa de Recursos Genéticos da Embrapa passou por ajustes e adequações durante vários períodos, em atendimento aos modelos de gestão institucional. No ano de 2015, a Diretoria Executiva da Embrapa tomou a iniciativa de aprovar a criação do Portfólio de Projetos "Gestão Estratégica de Recursos Genéticos para a Alimentação, a Agricultura e a Bioindústria". Este Portfólio tem um segmento não competitivo de aprovação de projetos, visando a garantir a continuidade das atividades relacionadas à conservação de recursos genéticos.

Os projetos são organizados em Vertentes vegetal, animal e microbiana, contemplando também projetos componentes relativos à documentação e implantação do Sistema de Qualidade das Coleções. Em 2018 foi aprovado o novo modelo do Sistema de Curadorias da Embrapa, criando Supervisores de Curadoria para cada uma das vertentes. O Portfólio de Recursos Genéticos tem metas específicas para o período de cinco anos, sendo avaliado anualmente quanto aos resultados alcançados sendo que, após cinco anos, é revisto para ajustes.

O sistema de qualidade, já implantado na Vertente Microbiana, visa adequar as coleções às normas internacionais de elevados padrões de qualidade e especialização (NIT-DICLA 061, ABNT ISO/IEC 17025: ABNT ISO GUIA 34, DOQ-CGCRE-034).

A diversidade microbiana brasileira, com a entrada em vigor da Convenção de Diversidade Biológica (CDB), é considerada Patrimônio Genético, sendo que a coleta de amostras deve ser realizada mediante autorizações emitidas por órgão competente (Registro de Autorização SISBIO e Lei 13.123/2015, regulamentada por meio do Decreto nº 8.772/2016). Assim, o enriquecimento das Coleções, por coleta de amostras em território nacional, segue a legislação, sendo necessário o rastreamento da origem das amostras, considerando a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e a repartição de benefícios, para conservação e uso sustentável da biodiversidade. Amostras microbianas oriundas de outros países são introduzidas, seguindo as normas de intercâmbio e quarentena (Decreto Presidencial 24.114, aprovado pelo Regulamento de Defesa

Sanitária Vegetal), constando no Parágrafo 2º, que, para fins experimentais, os microrganismos podem ter autorização do Ministério da Agricultura para a importação. O Laboratório de Quarentena "Costa Lima", situado na Embrapa Meio Ambiente é responsável pelas atividades de intercâmbio e quarentena de microrganismos. O Brasil editou a Medida Provisória nº 2.186-16/2001 que ficou vigente até 2015. Neste período, as amostras coletadas que se encontravam em coleções (ex situ) já estariam aptas a serem acessadas para várias finalidades, incluindo o desenvolvimento de insumos agropecuários e agroindustriais. Em 2015, foi publicada a Lei nº 13.123 regulamentada pelo Decreto nº 8.772/2016, que flexibilizou o cadastramento e as atividades que possam resultar em desenvolvimento de produtos e notificação da exploração econômica, com posterior registro destes produtos junto aos órgãos reguladores (MAPA/IBAMA/ANVISA).

O Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado — SISGEN, no âmbito do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético — CGen, possibilita cadastrar acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado, cadastrar envio de amostra que contenha patrimônio genético para prestação de serviços no exterior; cadastrar remessa de amostra de patrimônio genético; notificar produto acabado ou material reprodutivo; solicitar autorização de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado e de remessa ao exterior; solicitar o credenciamento de instituições mantenedoras de coleções ex situ que contenham amostras de patrimônio genético; obter comprovantes de cadastros, de remessa e de notificações; obter certidões de procedimento administrativo de verificação, bem como solicitar atestados de regularidade de acesso.

A Embrapa cumpre com a legislação vigente, orientando os profissionais e atualizando as informações referentes à Lei de Acesso à Biodiversidade, cadastrando suas Coleções Microbianas conservadas ex situ, tendo em cada Unidade Descentralizada um responsável pelos registros, bem como um representante legal na sua Sede, para orientações e estabelecimento de procedimentos padrões institucionais.

7. Subsídios a Convenções, Acordos e Iniciativas internacionais globais/regionais

A Embrapa tem contribuído desde 2007, junto à Comissão de Recursos Genéticos para a Alimentação e Agricultura da FAO, na discussão de um plano de trabalho sobre a conservação e uso de recursos genéticos microbianos, importantes para a agricultura.

A conservação de recursos genéticos microbianos realizada pela Embrapa

atende ao objetivo da Convenção de Diversidade Biológica (Meta 13) organizando as Coleções Microbianas e o Sistema AleloMicro. Como já mencionado, este sistema está sendo disponibilizado para que outras instituições públicas e privadas de ensino e pesquisa possam, via Termo de Adesão e Confidencialidade firmado com a Embrapa, organizar suas bases de dados de coleções microbianas. Esta ação visa contribuir para que as informações possam ser organizadas em nível nacional, o que permitirá a geração de relatórios, e monitoramento dos avanços na conservação de recursos genéticos microbianos, atendendo à demanda de resposta nacional aos Acordos e Iniciativas Internacionais.

Os recursos genéticos microbianos conservados pela Embrapa geram insumos para o desenvolvimento de biofertilizantes, biopesticidas e biorremediadores, que são utilizados no aumento da eficiência de processos produtivos agrícolas, reduzindo o impacto ambiental. Este é um desafio da Embrapa, que visa contribuir para o Plano Setorial de Mitigação e de Adaptação às Mudanças Climáticas para a Consolidação de uma Economia de Baixa Emissão de Carbono na Agricultura (Plano ABC), bem como contribuir para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). A Conservação de Recursos Genéticos Microbianos, com direto impacto na bioeconomia, atende ao Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (Planapo), suprindo as necessidades de produção de alimentos saudáveis, pela substituição de produtos químicos na agricultura, com consequente redução de contaminação ambiental e conservação de recursos naturais.

A criação do Sistema AleloMicro (segmento do Sistema Alelo) e disponibilização de informações no Portal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa..., 2018a) permitem o acesso, direto de usuários, às informações e dados referentes às Coleções Microbianas mantidas pela Embrapa, atendendo diretamente à Lei de Acesso à Informação – LAI (Lei nº 12.527/2011) e do Decreto nº 7.724/2012.

8. Tendência e Desafios

A tendência de aumento do número de linhagens de microrganismos mantidos em Coleções Microbianas da Embrapa indicado na Figura 2 reflete a adoção de modelo organizacional e de gestão dos recursos genéticos microbianos ao longo de quatro décadas, sendo crescente o aumento nos últimos dez anos. Este crescimento evidencia a priorização dada à organização das coleções e das informações associadas aos acessos armazenados em sistemas que permitem a avaliação dos acessos de forma mais precisa. O grande desafio ainda é coletar, identificar, caracterizar, conservar e documentar os recursos genéticos microbianos representativos

dos diferentes biomas brasileiros, considerando áreas cultivadas e áreas nativas. Conforme pode ser visto na Figura 1, o grande desafio das Coleções Microbianas da Embrapa se apresenta como a necessidade de ampliar a coleta, conservação e caracterização de microrganismos de importância agrícola oriundos dos biomas Caatinga e Amazônia, cujos acessos ainda são pouco representativos da diversidade microbiana das regiões norte e nordeste.

Outro desafio da conservação da biodiversidade microbiana e dos recursos genéticos reside principalmente na existência de microrganismos não cultiváveis ou de difícil cultivo, cuja perda e/ou extinção não pode ser mensurada. O desenvolvimento e a implementação de métodos de conservação de amostras diversas, contendo microrganismos e coletadas diretamente no ambiente, surgem como desafio para a conservação ex situ.

O uso de metagenômica, para a avaliação da diversidade microbiana em diferentes biomas e em áreas protegidas e cultivadas, exige investimentos e capacitação de instituições de P&D no país, em um esforço integrado.

O melhor conhecimento da diversidade microbiana, em um país de mega biodiversidade como o Brasil, pode resultar em avanços significativos em diversas áreas da agropecuária, agroindústria, saúde e outras.

9. Referências bibliográficas

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**. v.2, p. 280–284, 2011.

BHALLA, T. C.; MEHTA, S. P. K.; BHATIA, S. K.; PRATUSH, A. Microorganism for food and feed. In: LEE, B. H. **Fundamentals of food biotechnology**. Anne Publisher, New Delhi, India, 2009.

BOULTON, R. A.; HEIMPEL, G. E. Potential for biological control of a parasite of Darwin's finches. In: VAN DRIESCHE, R. G.; REARDON, R. C. **Suppressing over-abundant invasive plants and insects in natural areas by use of their specialized natural enemies**. Morgantown, WV: FHTET, 2017. p. 23-28.

CHATTOPADHYAY, P.; BANERJEE, G.; MUKHERJEE, S. Recent trends of modern bacterial insecticides for pest control practice in integrated crop management system. **3Biotech**, v. 7, n. 60, 2017. (DOI 10.1007/s13205-017-0717-6).

DZIONEK, A.; WOJCIESZYNSKA, D.; GUZIK, U. Natural carriers in bioremadiation: a review. **Eletronic Journal of Biotechnology**, v. 23, p. 28-36, 2016.

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Núcleo de Tecnologia da Informação. **Alelo Microrganismo**. 2018b. Disponível em: http://alelomicro.cenargen.embrapa.br/InterMicro/index.xjs. Acesso em: 06 dez. 2018.

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Núcleo de Tecnologia da Informação. **Portal Alelo**. 2018a. Disponível em: https://www.embrapa.br/alelo . Acesso em: 06 dez. 2018.

FUKAMI, J., CEREZINI, P., HUNGRIA, M. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 73, 2018. (DOI 10.1186/s13568-018-0608-1)

GIBBONS, S. M.; GILBERT, J. A. Microbial diversity: exploration of natural ecosystems and microbiones. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 35, p. 66-72, 2015.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p.1-13, 2010. (DOI 10.1016/j.soilbio.2009.08.020).

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. **Plant Soil**, v. 338, p. 467-481, 2011. (DOI 10.1007/s11104-010-0559-z).

McFall-Ngai, M.; Hadfield, M.; Bosch, T. C. G.; Carey, H. V.; Domazet-Loso, T.; Douglas, A. E.; Dublilier, N.; Eberl, G.; Fukami, T.; Gilbert, S. F.; Hentschel, U.; King, N.; Kjelleberg, S.; Knoll, A.H.; Kremer, N.; Mazmanian, S. K.; Metcalf, J. L.; Nealson, K.; Pierce, N. E.; Rawls, J. F.; Reid, A.; Ruby, E. G.; Rumpho, M.; Sanders, J. G.; Tautz, D.; Wernegreen, J. J. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. **PNAS**, v. 110, p. 3229-3236, 2013.

MOSCARDI, F. Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 257-289, 1999.

PYLRO, V.S.; ROESCH, L. F. W., ORTEGA, J. M.; AMARAL, A. M.; TÓTOLA, M. R.; HIRSCH, P. R.; ROSADO, A. S.; GÓES-NETO, A.; SILVA, A. L. C.; ROSA, C. A.; MORAIS, D. K.; ANDREOTE, F. D.; DUARTE, G. F.; MELO, I. S.; SELDIN, L.; LAMBAIS, M. R.; HUNGRIA, M.; PEIXOTO, R. S.; KRUGER, R. H.; TSAI, S. M.; AZEVEDO, V. Brazilian microbiome project: revealing the unexplored microbial diversity-challenges and prospects. **Microbial Ecology**, v. 67, p. 237-241, 2014. (DOI 10.1007/s00248-013-0302-4).

VITORINO, L. C.; BESSA, L. A. Microbial diversity: the gap between the estimated and the known. **Diversity**, v. 10, n. 46, 2018. (Doi:10.3390/d10020046)



