

BIOPROSPECÇÃO: UMA MINI REVISÃO QUANTO AO USO E A CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE COMO ELO ENTRE OS SISTEMAS ECOLÓGICOS E OS SISTEMAS HUMANOS

BIOPROSPECTION: A MINI REVIEW AS TO THE USE AND CONSERVATION OF BIODIVERSITY AS A BIND BETWEEN ECOLOGICAL SYSTEMS AND HUMAN SYSTEMS

Levy Assis dos Santos^{1,2}, Paula da Silva Ferreira^{1,3}, Yasmin Vergani Araujo^{1,4}

¹ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Conservação e Uso dos Recursos Naturais (PPGRen), Universidade Federal de Rondônia (UNIR).

² Biólogo, e-mail: biolevyassis@hotmail.com. ³ Bióloga, e-mail: paulaferreiracf@gmail.com. ⁴ Biomédica, e-mail: yasminvergani@gmail.com.

DOI: <https://doi.org/10.37157/fimca.v7i2.116>

RESUMO

O estudo da biodiversidade além de fonte de conhecimento sobre as principais interações entre os seres vivos e sua importância ecológica, oferece ainda uma gama de oportunidades para avanços tecnológicos no desenvolvimento de novas terapêuticas. Nesta mini revisão buscamos contextualizar algumas das principais descobertas, metodologias e abordagens utilizadas nesta não tão nova área da ciência, chamada bioprospecção. Através de breve levantamento bibliográfico utilizando as plataformas Google Acadêmico e Portal de Periódicos, acerca de estudos voltados para o desenvolvimento de novos insumos/ produtos através de fontes naturais de bioativos e metabólitos secundários buscamos elencar exemplos que indicam a relevância atual dos estudos conduzidos nesta temática, bem como a importância em alternativas para a conservação dos sistemas ecológicos. Assim esperamos que a temática aqui abordada traga aos leitores a extensa pluralidade deste campo de estudos e seu caráter multidisciplinar. Bem como os desafios e cenários futuros.

Palavras chave: Bioprospecção, Patrimônio Genético, Biodiversidade, Conservação, Cromatografia.

ABSTRACT

The study of biodiversity, in addition to being a source of knowledge about the main interactions between living beings and their ecological importance, also offers a range of opportunities for technological advances in the development of new therapies. In this mini review we seek to contextualize some of the main discoveries, methodologies and approaches used in this not so new area of science, called bioprospecting. Through a brief bibliographic survey using the Google Scholar and Portal of Journals platforms, about studies aimed at the development of new inputs / products through natural sources of bioactive and secondary metabolites, we seek to list examples that indicate the current relevance of studies conducted on this theme, as well as the importance of alternatives for the conservation of ecological systems. Thus, we hope that the theme addressed here will bring readers the extensive plurality of this field of studies and its multidisciplinary character. As well as future challenges and scenarios.

Key words: Bioprospecting, Genetic Heritage, Biodiversity, Conservation, Chromatography

INTRODUÇÃO

"Uma propriedade fundamental da matéria viva é ser diversa. Sem essa propriedade, não há vida" (MACHADO, 2012). Considerando que vivemos em um grande sistema ecológico (biosfera) usufruindo dos serviços ecossistêmicos destes e interagindo o tempo todo com diferentes espécies, nada mais oportuno que buscar novos fármacos, bioativos, enzimas, metabólitos, entre outros, neste enorme repositório natural. Para isso se faz necessário estudar a fundo nossa ecologia, entender a interação entre espécies, correlacionar e identificar os autores dessas dinâmicas.

Essas interações ocorrem a todo momento e em todos os habitats, contudo, o homem passou a observar que elas poderiam beneficiar a sociedade de diferentes formas, como o caso da descoberta ao acaso de Alexander Fleming, médico e bacteriologista escocês. Fleming observou que as placas com culturas bacterianas que foram contaminadas por fungos não apresentaram crescimento bacteriano ao redor dos fungos, algo ali inibia o crescimento ou destruía a bactéria (TORTORA, 2017). Essa descoberta revolucionou a produção em massa de antibióticos e atualmente os antimicrobianos são sintetizados e baseado nestes compostos naturais através de ferramentas moleculares.

Desde então, o homem vem observado a natureza e buscado algo para favorecer a sociedade em seus diferentes Sistemas Humanos, isto é, a economia, saúde, tecnologia, agropecuária, sistema de saneamento e abastecimento, energia entre outros. A biodiversidade então passou a ser o ouro dos exploradores. Podemos então chegar a seguinte equação: quanto maior a biodiversidade de espécies maior será a diversidade de substratos, moléculas e genes.

Concomitante, será maior o equilíbrio entre os sistemas naturais e sistema humano. Nesse último, o equilíbrio existirá se o uso e a conservação das espécies forem aplicados, conforme a Convenção sobre Diversidade Biológica - CDB. Essa Convenção possui três princípios: a conservação da diversidade biológica, o uso sustentável da biodiversidade e a repartição da utilização dos recursos genéticos. Refere-se também à biodiversidade nos seguintes níveis: ecossistemas, espécies e recursos genéticos (BRASIL, 2000).

Com isso, chegamos enfim, ao conceito de bioprospecção, extrair produtos da biodiversidade e aplicar no sistema humano. Saccaro Júnior (2011) vai logo ao ponto de valor econômico, conceituando a bioprospecção como "...a busca sistemática por organismos... e partes provenientes de seres vivos em geral, que possam ter um potencial econômico e, eventualmente, levar ao desenvolvimento de um produto". Ele ainda define que os alvos da bioprospecção são chamados de recursos genéticos e seu conjunto forma o patrimônio genético nacional. Considerando a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, o Art. 2 define o patrimônio genético como "*informação de origem genética de espécies vegetais, animais, microbianas ou espécies de outra natureza, incluindo substâncias oriundas do metabolismo destes seres vivos*" (BRASIL, 2015).

O decreto 8.772/2016 também define patrimônio genético e regulamenta a Lei 13.123/2015 nos trazendo todas orientações quanto aos órgãos competentes, reguladores e fiscalizadores, informações quanto ao cadastro e autorizações de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado e do cadastro de envio

de amostra que contenha patrimônio genético para prestação de serviços no exterior, do credenciamento das instituições nacionais mantenedoras de coleções x situ de amostras que contenham o patrimônio genético, da repartição de benefícios monetária, entre outros informações, além de sanções e infrações caso não seja seguida e a multa pode chegar a R\$ 10.000.000,00 (dez milhões de reais) para pessoa jurídica (BRASIL, 2016). O Ministério do Meio Ambiente levando em consideração as legislações supraditas, publicou as Portarias nº 422/2017, nº 378/2018, nº 81/2020, nº 143/2020 e nº 199/2020 para completá-las e pôr em execução algumas normas, através de formulários para os cadastros, termo de compromisso e declarações de receita e etc (BRASIL, 2017; 2018; 2020).

Apesar de toda a legislação estar detalhada dos procedimentos frente a bioprospecção e o patrimônio genético, existem aqueles que não obedecem às leis impostas, ora por desconhecer da ampla e ramificada lei, ora para evitar a conhecida burocracia, o que nos leva a biopirataria. Saccaro Jr (2011) afirma isso dizendo que “*o grande potencial econômico dos recursos genéticos, associado aos custos da repartição de benefícios, acabou levando a formas ilegais de apropriação, que deram origem ao termo biopirataria*”. Este excesso de leis que se desdobram em decretos, portarias, medidas provisórias, orientações técnicas, termos de responsabilidades e colaboram para sua ineficiência e eventuais crimes. Saccaro Júnior (2013) comenta o seguinte, “*Enquanto a legislação penal não incorporar novos dispositivos para desestimular a ilegalidade, torna-se ainda mais importante facilitar e dar agilidade à bioprospecção regularizada, para que esta possa competir contra a biopirataria*”. Três anos antes desse comentário de Saccaro Júnior, Ferreira e Clementino (2010) elaboraram um documento com a legislação vigente no sistema brasileiro e internacional onde constavam as exigências, processos administrativos e relatórios, tudo muito bem detalhado em 334 páginas, para demonstrar o quão grande eram as normas para se executar um trabalho de bioprospecção dentro das legalidades. Ainda hoje este documento serve como parâmetro para nos ajudar a registrar os avanços realizados nesta temática. Evidencia também a nossa reorientação de atitude frente a biodiversidade, a qual está em grande ameaça nas últimas décadas, em consequência das atividades humanas e mudanças climáticas.

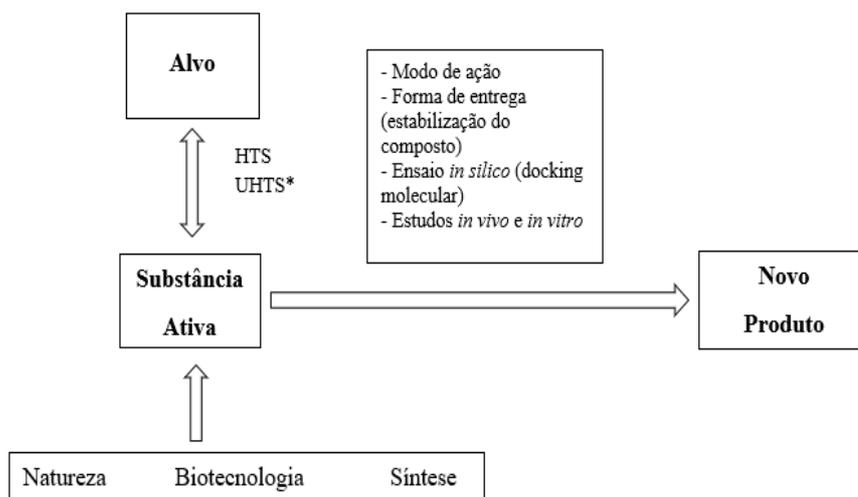
Levando em consideração os achados históricos e a importância da biodiversidade como patrimônio genético, diferentes linhas de pesquisas vêm buscando produtos que favoreçam e potencializem valores econômicos em diversas áreas do sistema humano como biotecnologia, agricultura, nutrição, indústria, biorremediação, biomonitoramento, saúde, produção de combustível por meio de biomassa, entre outros (SACCARO JÚNIOR, 2011). Para isso, são utilizadas diferentes metodologias moleculares (PCR, western blot, cromatografia, espectrometria de massa, etc), análises *in silico* através de banco de dados, e outras tecnologias de automação que levam a identificação, fragmentação e purificação dessas moléculas. Mediante

essa diversidade de metodologias, abordaremos algumas delas com as suas aplicações.

APLICAÇÕES DA BIOPROSPECÇÃO

Wink (2007) exemplifica que em consequência do Projeto Genoma Humano e outras pesquisas em função da genômica e da proteômica, muitos genes foram identificados e correlacionados com doenças e desta forma vários produtos desses genes, ou seja, proteínas, tornaram-se novos alvos para o desenvolvimento de novas terapêuticas. Outros pesquisadores viram a importância então de aumentar o número de sequenciamentos de diferentes organismos eucariotos e procariotos para a partir daí criar banco de dados, auxiliando na identificação taxonômica dos seres vivos, colaborando na classificação e catalogando a biodiversidade, produzindo bioferramentas e explorando novos bioprodutos. Para isso, foram necessários, análises de bioinformática nos ensaios *in silico*, Reação em Cadeia da Polimerase - PCR, eletroforese e sequenciamento nas análises *in vitro* (LINKS, 2012; TANABE, TOJU, 2013; LEBONAH, 2014).

As múltiplas técnicas de bioprospecção nos levam a obter diversos estudos, análises e resultados. Muitas destas técnicas são empregadas no estudo dos chamados metabólitos secundários. Estes são compostos orgânicos produzidos por plantas, fungos, animais e bactérias, que não estão diretamente ligados a seu crescimento e desenvolvimento estando muitas vezes relacionados a



*Triagem de Alto Rendimento (High-throughput Screening - HTS)

Triagem de Ultra-Rendimento (ultra-high-throughput screening - UHTS)

Figura 1. Esquema resumido de procedimentos adotados no desenvolvimento de novos produtos (Adaptado de WINK, 2007).

adaptação e defesa do organismo (WINK, 2007; MAKKAR *et al.*, 2007). Esses compostos secundários têm atraído grande interesse para desenvolvimento de drogas e vacinas, por exemplo (Figura 1).

No contexto da indústria farmacêutica, um clássico exemplo da aplicação de componentes de venenos de serpentes como fonte para o desenvolvimento de fármacos é representado pelo Captopril®, um anti-hipertensivo derivado de um peptídeo isolado do veneno da serpente *Bothrops jararaca* (FERREIRA *et al.*, 1965). Outros exemplos podem ser citados para representar a utilização destas moléculas como modelos de fármacos bem como: componentes desfibrinogénicos, como o ancrod e

batroxobin, (Defibrase® Pentapharm – CH), que são prescrevidos para pacientes com trombose, isquemia e outras enfermidades (MACKESSY *et al.*, 2010).

Calderon e cols. (2014) através de uma revisão bibliográfica, elencaram algumas moléculas e enzimas oriundas de veneno de serpentes com atividade antineoplásica com ação citotóxica e citostática sobre as células tumorais e sugeriram a possibilidade de aplicações clínicas.

Venenos de serpentes têm sido estudados para obter moléculas com potencial biotecnológico, Alfonso e cols. (2019) identificaram uma PLA₂ do veneno da espécie de *B. matogrossensis* do Paraguai, a qual recebeu nome de BmatTX-IV onde revelou um potencial antiparasitário de seus então componentes. Nesse estudo, são utilizadas diversas ferramentas de bioprospecção, como cromatografia de troca catiônica e fase reversa, eletroforese monodimensional (SDS-PAGE), sequenciamento e obtenção da massa molecular por espectrometria de massa.

A metodologia de eletroforese monodimensional foi previamente descrita por Laemmli, (1970), onde a massa molar relativa (Mr) é determinada comparando-se as distâncias relativas de migração das amostras e dos padrões de massa molecular. A eletroforese em gel de poliacrilamida 12,5 % (m/v) na presença de SDS, é realizada em sistema descontínuo de pH, em condições redutoras e não redutoras com a presença do agente redutor DTT e em condições nativas sem a presença de agente redutor, as amostras analisadas geralmente estão na concentração de 15µg/mL. A separação eletroforética é feita a 100 v, até que o azul de bromofenol atinge a frente, o gel é fixado em solução aquosa e metanol 40% (v/v) e ácido acético 7% (v/v) por 30 minutos. As bandas de proteínas são evidenciadas através da imersão em solução contendo Coomassie Brilliant Blue G-250® 0,08 % (m/v), sulfato de alumínio 8,0 % (m/v), ácido o-fosfórico 1,6 % (m/v) e metanol 20,0 % (v/v) pelo período de 2 horas. O excesso de corantes é retirado por imersão em solução descolorante contendo etanol 4,0 % e ácido acético 7,0 % (v/v) em água. Várias trocas desta solução geralmente são realizadas até a obtenção de gel com coloração adequada.

Para a obtenção de resultados satisfatórios para a purificação de proteínas (garantindo assim seu alto grau de pureza), é de suma importância a escolha de técnica adequadas, como os métodos cromatográficos que são muito utilizados no processo de caracterização de venenos elapídico. Um grande exemplo, é a cromatografia de troca iônica, que permite a separação de proteínas com base em sua carga devido à constituição de aminoácidos que são ionizados em razão do pH. Proteínas com carga líquida positiva, em um determinado pH (abaixo do seu ponto isoelétrico), conseguem ser desajuntadas com o uso de uma resina de troca catiônica e, por outro lado, proteínas com carga líquida negativa em um valor de pH acima de seu ponto isoelétrico, podem ser separadas com uma resina de troca aniônica (STABELI, *et al.*, 2012).

Outra metodologia de suma importância é a cromatografia de fase reversa, que segundo Carvalho e cols. (1998) que isolaram pela primeira vez a molécula BjuL, para o isolamento da molécula lectina a fração de interesse é submetida a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) em coluna C-18 (25 mm x 4,6 mm, Supelco), previamente equilibrada com a solução A e eluída sob gradiente 0 a 70 % de solução B (acetoneitrila 99,9 % e TFA 0,1 %) em 5 volumes de coluna, sob fluxo de 1mL/min, em sistema de cromatografia HPLC. Essa metodologia

utilizada para o fracionamento e purificação da molécula demonstram ser de rápida execução, e os procedimentos cromatográficos para obtenção de moléculas são baseados em dados previamente descritos em literatura, porém podem contar com a utilização de modificações.

Em outra linha de pesquisa, agora analisando extratos de plantas, Pompilho e cols. (2014) identificaram bioativos de três espécies de vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira, *Trigynaea oblongifolia* Schltld (Annonaceae), *Ottonia frutescens* rel (Piperaceae), e *Bathysa australis* (St Hill) Hooz (Rubiaceae), que apresentaram toxicidade contra o microcrustáceo *Artemia salina* Leach, e ainda isolaram metabólitos antioxidantes como flavonoides. Ao final concluíram que *O. frutescens* e *T. oblongifolia* são grandes potenciais na bioprospecção de moléculas biologicamente ativas. Para essa pesquisa a análise fitoquímica dos extratos metanólicos das folhas foi realizada em cromatografia em camada delgada (CCD) e a avaliação da atividade antioxidante foi determinada pelo teste do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Seguindo uma outra abordagem, Clementino e cols. (2015) relatam que fungos da caatinga em condições apropriadas de cultivo produzem antibióticos contra bactérias gram positivas ou negativas, onde se utilizaram das seguintes técnicas: purificação dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando coluna de fase reversa e para a identificação dos isolados técnica batata-dextrose-ágar (BDA), resultando assim em moléculas isoladas com atividade antibacteriana.

Já a crescente resistência dos mosquitos aos inseticidas levou Santana e cols. (2015) a bioprospectar substâncias de plantas proveniente da flora amazônica com atividade larvicida contra o vetor da dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Eles extraíram óleo essencial das folhas de *Piper arboreum*, *Piper marginatum* e *Piper aduncum* por hidrodestilação em Clevenger modificado e analisado por cromatografia gasosa. Os óleos essenciais da espécie Piperaceae estudados resultaram em concentrações letais, contudo, a *P. Marginatum* apresentou a maior atividade larvicida contra o *A. aegypti*.

Outra utilização das Piperaceae que vem demonstrado também alto valor para bioprospecção é na área de agronomia. A lagarta de veludo, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Eribidae), é a principal desfolhadora de soja no Brasil. Segundo Krinski (2018) dezesseis espécies de *Piper* são potenciais para uso de inseticidas, ovocidas e botânicos biorraciais, reduzindo ou inibindo a eclosão larval dos ovos. As metodologias utilizadas nesse estudo foram semelhantes ao trabalho de Santana *et al* (2015), ou seja, utilizou-se cromatografia gasosa e análises de bancos de dados de espectrometria de massa.

Romão e cols. (2020) seguindo uma linha de pesquisa de biotecnologia mostraram uma outra forma de bioprospectar desenvolvendo um dispositivo portátil para identificação de Coliformes e *Escherichia coli*, afirmando que é possível a detecção qualitativa e quantitativa das bactérias-alvo presentes em líquidos, e possível aplicação para avaliação da qualidade da água, alimentos e superfícies ambientais. Diversas metodologias foram empregadas incluindo a confecção do dispositivo com papel filtro e polímero polidimetilsiloxano, preparo de meio de cultura específico para o grupo de bactérias alvo, otimização da técnica de coleta e cultivo bacteriano.

Como podemos observar a busca por compostos ativos derivados da natureza é bastante abrangente e a todo

momento novos alvos e novos produtos estão sendo descobertos. As chamadas Triagem de Alto Rendimento (High Throughput Screening - HTS) e Triagem de Ultra-Rendimento (Ultra High Throughput Screening - UHTS) são metodologias que permitem uma rápida e eficiente investigação de grandes bibliotecas de substâncias sintéticas, substâncias aprimoradas por processos de biotecnologia e aquelas advindas da natureza (WINK, 2007; WÖLCKE e ULLMANN, 2001; LAVARY *et al.*, 2001).

Estas tecnologias de triagem são cada vez mais aprimoradas pela indústria farmacêutica como aliadas ao rápido desenvolvimento de novos fármacos. Outra vantagem desse método é avaliar produtos já conhecidos e analisar possíveis resistências adquiridas, como exemplificado por Pridgeon e cols. (2009), onde utilizaram high-throughput screening para avaliar a eficiência de 19 químicos contra larvas e fêmeas de *Ae. aegypti* para determinar aqueles como possíveis candidatos para o desenvolvimento de novos pesticidas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observamos as legislações aplicadas a bioprospecção protegendo o nosso patrimônio genético abordando cada passo a seguir para chegar ao recebimento do valor deste bem. E percebemos quando não compridas existem sanções e multas com valores bem expressivos, para induzir que todos caminhem na mesma direção da legalidade, favorecendo o Produto Interno Bruto - PIB consequentemente a economia do país. Contudo, a burocracia ou detalhes exaustivos jurídicos também nos leva a biopirataria, um mal que precisa ser enfrentado, principalmente em nossas fronteiras, mas que também ocorre dentro do país ora por ignorância, ora pelo jeito brasileiro de otimizar os processos.

Foram abordadas várias aplicações da bioprospecção dentro do sistema humano, seja ela aplicado na saúde pública, na agronomia, monitoramento ambiental ou em outras áreas. A corrida atualmente não se dá exclusivamente ao espaço ou ao centro da Terra. Grandes indústrias farmacêuticas produzem e aprimoram constantemente suas fórmulas já existentes e buscam ativamente por novas moléculas para inovar seus produtos ou patentear as novas biomoléculas a fim de aumentar seu capital e aumentar a sua visibilidade no mundo globalizado. Não somente na busca por novos tratamentos ou cura para alguma patologia ou síndrome, tanto em humanos como nos animais, mas também no ramo dos cosméticos, por exemplo.

Na pecuária, além de desenvolver gramíneas de crescimento mais rápido e resistentes a mudanças climáticas, fármacos são desenvolvidos para combater zoonoses, aumento a sobrevivência do animal, e desenvolvimento de rações e bioativos a fim de melhorar a qualidade de vida do espécime e do melhoramento do produto final a ser comercializado, enriquecido com mais vitamina, por exemplo. No agronegócio, pequenos e grandes agricultores se beneficiam do melhoramento genéticos de seus cultivos, trabalhando com os Organismos Modificados Geneticamente – OMG, modificando o plantio ou a praga a nível molecular, e ou aperfeiçoamento com os simbiontes como as micorrizas, os polinizadores ou até mesmo a própria praga agrícola, através de produtos bioprospectados em laboratório. Vale lembrar que as pragas urbanas (baratas, formigas, cupins, moscas, e ratos), são alvos de muitas pesquisas que visam a bioprospecção de metabólitos para fins de combate a estes, ora por síntese de novas fórmulas, ora por modificações

genéticas como citado anteriormente. Pode-se citar também as empresas petrolíferas que usam microrganismos para decompor material orgânico. A busca por moléculas que ajudam a degradar o óleo e limpar o meio ambiente em casos de acidentes, é um dos objetivos dessas empresas e órgãos que buscam amenizar danos ao meio ambiente. O governo tem visto toda essa produção, bioprospecção, com bons olhos, pois favorece diretamente o PIB do país, valoriza a riqueza de bem natural, a biodiversidade e contribui com o sistema global humano, porém, a sua participação em investimentos em linhas de pesquisas ainda é deficiente, mínimas se comparado aos países desenvolvidos.

Apesar do conceito está relacionado diretamente à extração da biodiversidade levando a um produto com valor econômico, as universidades brasileiras ainda carecem de maior aplicabilidade em seu empreendedorismo, a exemplo das universidades de países desenvolvidos, onde os acadêmicos já são estimulados a criar seu próprio negócio ainda em sua formação, como ocorre por exemplo no Massachusetts Institute of Technology – MIT. Possuímos a maior biodiversidade do mundo, tanto em nossas florestas como no extenso litoral atlântico e demais biomas e assim um grande potencial de desenvolvimento na área, sendo viável um maior investimento.

Recomendamos uma revisão mais extensa sobre o tema, pois assim como a biodiversidade em sua totalidade é desconhecida, o que ela pode nos beneficiar em valor econômico ainda é incalculável. Da mesma forma outras metodologias que aqui não foram explanadas, outras ferramentas, como a bioinformática, se fazem necessário conhecer para uma melhor aplicabilidade nos estudos de bioprospecção.

REFERÊNCIAS

ALFONSO, J.J.; KAYANO, A.M.; GARAY, A.F.G. *et al.* Isolation, Biochemical Characterization and Antiparasitic Activity of BmatTX-IV, A Basic Lys49-Phospholipase A2 from the Venom of *Bothrops matogrossensis* from Paraguay. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 22, p. 2041–2048, 2019.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **A Convenção sobre Diversidade Biológica – CDB**. Brasília - DF, 2000. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_dpg/_arquivos/cdbport.pdf>. Acesso em: out. de 2020.

BRASIL, **Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2015/Lei/L13123.htm#art50>. Acesso em: out. de 2020.

BRASIL, **Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2016/decreto/d8772.htm>. Acesso em: out de 2020.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, **Portaria nº 422, de 6 de novembro de 2017**. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/images/arquivo/80043/termo%20de%20compromisso/Portaria%20422-Termos%20de%20Compromisso.pdf>>. Acesso em: nov. de 2020.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, **Portaria nº 378, de 1 de outubro de 2018**. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/images/arquivo/80043/termo%20de%20compromisso/Portaria_n_378_de_1_de_outubro_de_2018_-_Novos_modelos_de_TC.PDF>. Acesso em: nov. de 2020.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, **Portaria nº 81, de 5 de março de 2020**. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/images/arquivos/Termo%20de%20Compromisso/Portaria_MMA_n_81_de_05_03_2020.pdf>. Acesso em: nov. de 2020.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, **Portaria nº 143, de 30 de março de 2020**. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/images/arquivos/Termo%20de%20Compromisso/Portaria_143-2020.pdf>. Acesso em: nov. de 2020.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, **Portaria nº 199, de 22 de abril de 2020**. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/images/arquivos/Termo%20de%20Compromisso/Portaria_MMA_n_199.pdf>. Acesso em: nov. de 2020.

- CALDERON, L.A.; SOBRINHO, J.C.; ZAQUEO, K.D. *et al.* Antitumoral Activity of Snake Venom Proteins: New Trends in Cancer Therapy. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-19, 2014.
- CARVALHO, D.D.; MARANGONI, S.; OLIVEIRA, B.; *et al.* Isolation and characterization of a new lectin from the venom of the snake *Bothrops jararacussu*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 44, n. 5, p. 933-938, 1998.
- CLEMENTINO, L.C.; BARBOSA, C.C.; SILVA, F.D. *et al.* Bioprospecção de antibióticos produzidos por fungos da caatinga. **Evidência**, Joaçaba v. 15, n. 1, p. 37-56, jan./jun. 2015.
- FERREIRA, S.H. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. **Brit J Pharmacol**, v. 24, n. 1, p. 163-169, 1965.
- FERREIRA, S.N.; CLEMENTINO, A.N.R. **Legislação de acesso a recursos genéticos e conhecimentos tradicionais associados e repartição de benefícios**. Brasília, DF: Embrapa. Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, 2010. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/78762/1/Legislacao-Acesso-Recursos-Geneticos-ERRATA.pdf>>. Acesso em: nov. de 2020.
- KRINSKI, D.; FOERSTER, L.A.; DESCHAMPS, C. Ovicidal effect of the essential oils from 18 Brazilian Piper species: controlling *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Erebididae) at the initial stage of development. **Acta Scientiarum, Agronomy**, v. 40, e35273, 2018.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.
- LAVERY, P.; BROWN, M. J.B.; POPE, A.J. Simple absorbance-based assays for ultra-high throughput screening. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 6, n. 1, p. 3-9, 2001.
- LEBONAH, D.E.; DILEEP, A.; CHANDRASEKHAR, K. *et al.* DNA Barcoding on Bacteria: A Review. **Advances in Biology**, V. 2014, ID 541787, 9 pages, 2014.
- LINKS, M.G.; DUMONCEAUX, T.J.; HEMMINGSEN, S.M. *et al.* The Chaperonin-60 Universal Target Is a Barcode for Bacteria That Enables De Novo Assembly of Metagenomic Sequence Data. **PLoS ONE**, v. 7, issue 11, e49755, nov. 2012.
- MACHADO, L.C.P. Agrobiodiversidade. In: CALDART, R.S.; PEREIRA, I.B.; ALENTEJANO. *et al.* **Dicionário de Educação do Campo**. RJ, SP: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Expressão Popular, p. 48-51. 2012.
- MACKESSY, S.; KINI, R.M.; CLEMETSON. *et al.* Trombina-simile Enzymes in Snake Venoms. In *Toxins and Hemostasis*. Ed, London: **Springer**, pp. 518-558, 2010.
- MAKKAR, H.P.S.; SIDHURAJU, P.; BECKER, K. **Plant secondary metabolites**. Totowa, NJ, USA: Humana Press, 2007.
- POMPILHO, W. M.; MARCONDES, H.C.; OLIVEIRA, T.T. Bioatividade de três espécies vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. **Rev. Bras. Pl. Med., Campinas**, v.16, n.3, p.473-480, 2014.
- PRIDGEON, J.W.; BECNEL, J.J.; CLARK, G.G. *et al.* A high-throughput screening method to identify potential pesticides for mosquito control. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 2, p. 335-341, 2009.
- ROMÃO, N.F.; PEREIRA, N.A.C.; FUNES-HUACCA, M.E. *et al.* Portable Diagnostic Platform for Detection of Microorganisms Coliforms and *E. coli*. **Advances in Microbiology**, 10, 224-237, 2020.
- SACCARO, JR.; NILO, L. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. **Ambiente & Sociedade**, Campinas, v. XIV, n. 1, p. 229-244 jan.-jun. 2011.
- SACCARO, JR.; NILO, L. **Desafios da bioprospecção no Brasil**_ Texto para discussão 1569. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Brasília, jan. de 2011. Disponível em: <http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/1568/1/TD_1569.pdf>. Acesso em out de 2020.
- SACCARO, JR.; NILO, L. **Como impulsionar a bioprospecção no Brasil: bases para uma moderna regulação do acesso a recursos genéticos e ao conhecimento tradicional associado**_ Texto para discussão 1807. Brasília, jan. de 2013. Disponível em: <https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/TDs/td_1807.pdf>. Acesso em: nov. de 2020.
- SANTANA, H.T.; TRINDADE, F.T.T.; STABELI, R.G.; *et al.* Essential oils of leaves of Piper species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Rev. Bras. Plantas Med.**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 105-111, Mar. 2015.
- STABELI, R.G.; CALDERON, L. A.; SOARES, A.M. Purification of Phospholipases A2 from American Snake Venoms. **Journal Intech**, p. 1 – 38, 2012.
- TANABE, A.S.; TOJU, H. Two New Computational Methods for Universal DNA Barcoding: A Benchmark Using Barcode Sequences of Bacteria, Archaea, Animals, Fungi, and Land Plants. **PLoS ONE**, v. 8, issue 10, e76910, 2013.
- TORTORA, G.J.; **Microbiologia**. 12. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2017.
- WINK, M. Bioprospecting: the search for bioactive lead structures from nature. **Medicinal Plant Biotechnology: From Basic Research to Industrial Applications**, p. 97-116, 2006.
- WÖLCKE, J.; ULLMANN, D. Miniaturized HTS technologies–uHTS. **Drug Discovery Today**, v. 6, n. 12, p. 637-646, 2001.