

# Revisão para Lundiana

Agosto de 2002

## **Bancos de DNA: coleções estratégicas para estudos da biodiversidade**

Fabício R. Santos, Pedro E. M. Guimarães & Rodrigo A. F. Redondo

Departamento de Biologia Geral, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais  
Av. Antônio Carlos, 6627, C.P. 486, 31.270-010 Belo Horizonte, MG, Brasil

Título curto: Bancos de DNA para estudos da biodiversidade

Palavras chaves: biodiversidade, banco de DNA, ecologia molecular, genética comparativa, bioprospecção

Endereço para correspondência:

Fabício Rodrigues dos Santos

Departamento de Biologia Geral, ICB, UFMG

C.P. 486 Av. Antônio Carlos, 6627

31-270-010 Belo Horizonte, MG, Brasil

Tel: 55-31-3499.2581 - fax: 55-31-3499.2570

e-mail: [fsantos@icb.ufmg.br](mailto:fsantos@icb.ufmg.br)

## Resumo

A biodiversidade em seu estado fundamental compreende toda a variabilidade genética representada dentro de cada espécie. Antes da extinção formal de cada espécie, grande parte da biodiversidade já se extinguiu em termos de variabilidade genética. Para cada espécie, acredita-se que exista um número mínimo viável de indivíduos, que seja grande o suficiente para manter a espécie viva onde sua biodiversidade genética não seja erodida por processos evolutivos tais como endogamia e deriva genética. Então o diagnóstico de perda da variabilidade genética é o primeiro sintoma de extinção de uma espécie qualquer. Para se quantificar esta diversidade genética de modo preciso, no mínimo, é necessário algum conhecimento sobre o genoma das espécies em estudo para o desenvolvimento de protocolos de detecção de variabilidade genética que são particulares de cada espécie.

A proposta de criação de bancos de DNA visa montar coleções estratégicas para incrementar o conhecimento genômico a respeito das espécies que se queira estudar, quer para aplicações em genética da conservação, quanto para estudos de genômica comparativa, filogenia, evolução ou bioprospecção para uso biotecnológico.

Atualmente estima-se que exista uma grande biodiversidade de espécies no Brasil, que também deve refletir em uma enorme biodiversidade genética. O acúmulo de conhecimentos sobre protocolos de análise genética e de exploração biotecnológica da biodiversidade, é de extrema importância para nosso desenvolvimento científico e tecnológico. Recentemente, a biodiversidade brasileira tem sido alvo de biopirataria frente ao interesse principalmente das indústrias farmacêuticas. A única forma de garantirmos a soberania sobre nossa biodiversidade é compreendê-la em todos os seus níveis: genes, espécies e ecossistemas.

## Abstract

Biodiversity, as considering its most fundamental subdivision, comprise all the genetic variability in every species. At this level, before the formal extinction of species, great part of its biodiversity has been already extinct in terms of genetic diversity.

For each species, it is believed that there is a minimum viable number of individuals, which must be large enough to keep alive the species, where their genetic biodiversity will be not eroded by evolutionary process such as endogamy and genetic drift. Thus, a diagnosis of genetic variability loss is the first symptom of a species extinction.

However to quantify genetic diversity in a precise way it is needed some previous knowledge about the species genome in order to the development of protocols for detection of genetic variability which are mostly characteristic of each species.

The proposal of creation of DNA Banks envisage to set up strategic collections to increase the genomic knowledge about particular species, to allow studies of conservation genetics as well as comparative genomics, phylogeny and evolution or bioprospective studies for biotechnology industry.

Today it is estimated that there is an enormous species biodiversity in Brazil that should also reflect in a colossal genetic biodiversity. The know-how acquisition of genetic analysis protocols and biotechnological exploration of our biodiversity is extremely important for our scientific and technological development. Recently, the Brazilian biodiversity has been target of biopiracy, particularly due to the interests of pharmaceutical industries. The only way to preserve our sovereignty on the Brazil's biodiversity is to understand it in all levels: genes, species and ecosystems.

## Introdução

A criação de bancos de amostras de DNA de representantes da biodiversidade visa propiciar estudos genéticos para as mais distintas finalidades. Estes estudos lidam basicamente com a biodiversidade em seu aspecto mais fundamental que se dá no nível molecular ou diversidade genética. A preservação da biodiversidade genética também faz parte dos compromissos dos países que seguem premissas da Convenção em Diversidade Biológica (<http://www.biodiv.org>).

Recentemente uma série de publicações tem ressaltado a importância do uso de estratégias alternativas de preservação da biodiversidade (Chapim et al., 2000). A preocupação com a perda da biodiversidade foi demonstrada recentemente pelo meio científico com o diagnóstico das regiões mais ricas e ameaçadas do planeta (Myers et al., 2000), que foram consideradas como *Hotspots* de biodiversidade. Para a minimização desta grande perda iminente, dentre as várias estratégias de conservação, destaca-se a criação de bancos de DNA de espécies em perigo de extinção (Ryder et al., 2000).

A implantação e a manutenção de coleções de DNA visam promover inicialmente o conhecimento dos genomas das espécies que se queira estudar. Estes estudos se iniciam com o desenvolvimento de metodologias de detecção de informações genéticas intra e inter-específicas que são próprias de cada genoma. A partir destes dados pode-se proceder, por exemplo, a análise da estruturação genética a partir de amostras populacionais de uma única espécie, ou filogenia molecular em comparações inter-específicas. Estes estudos podem ser empregados em vários problemas da biologia da conservação, tal como na discriminação de espécies e/ou subespécies ameaçadas (Nash et al., 1998; Walpole et al., 2001), desenvolvimento de estratégias de manejo reprodutivo para evitar endogamia (Geyer et al., 1993; Miller, 1995) e determinação do *status* de conservação de uma espécie utilizando-se parâmetros de estruturação da

diversidade genética (O'brien et al., 1985). Além disto, atualmente métodos de genética molecular estão ajudando na fiscalização das leis de proteção de biodiversidade, tal como na identificação de distintas espécies de baleias a partir de amostras de carne apreendidas no comércio (Palumbi & Cipriano, 1998; Baker et al., 2000).

Bancos de DNA são coleções *ex situ* da biodiversidade, nas quais uma ou mais amostras do germoplasma (variabilidade genética total) de determinadas espécies são conservadas de forma artificial (Borém & Santos 2001). Outros exemplos de coleções *ex situ* são bancos de sementes de espécies vegetais, coleções zoológicas, herbários e até mesmo Jardins Zoológicos e Botânicos. Por outro lado, as coleções denominadas *in situ* são aquelas em que o germoplasma é conservado naturalmente, e são mais conhecidas como unidades de conservação, reservas biológicas, parques naturais, etc. Obviamente nem todas as unidades de conservação funcionam como um verdadeiro banco de germoplasma, devido à falta de monitoramento ou desconhecimento da diversidade genética presente (Borém & Santos 2001).

O banco de DNA (Figura 1) visa preservar genomas artificialmente, para permitir aplicações em genética da conservação, sistemática e evolução, genômica comparada, bioprospecção e desenvolvimento sustentável.

A preservação de genomas foi primeiro levantada com a sugestão da criação de bancos criogênicos de material biológico vivo (células, tecidos, sementes e gametas), em um artigo intitulado *Salvando a Biblioteca da Vida* (Benford, 1992). Esta proposta de um banco biológico congelado foi comparada a uma operação de salvamento de emergência e não a um inventário, visto que o propósito era amostrar o máximo da biodiversidade sem prever seu estudo imediato, simplesmente para evitar que os genomas (ou germoplasmas) de várias espécies se percam com o processo de extinção. A criopreservação celular tem sido utilizada principalmente com espécies

domésticas, animais e vegetais, para preservar espécies e variedades que poderiam ser utilizadas posteriormente em melhoramento genético (Mariante & Egito, 2002). A criação de bancos criogênicos com fins de conservação *ex situ* da biodiversidade iniciou-se em parques zoológicos (Ryder et al., 2000). Uma iniciativa pioneira foi a criação do Zoo-congelado de San Diego, E.U.A.

([http://www.sandiegozoo.org/conservation/zooproject\\_frozenzoo.html](http://www.sandiegozoo.org/conservation/zooproject_frozenzoo.html)), onde células de várias espécies de mamíferos e aves são mantidas criopreservadas. Nestes bancos faz-se não apenas a preservação do genoma mas também da estrutura celular básica da espécie, que futuramente poderá ser utilizada para a reconstrução de organismos inteiros, tal como nos experimentos de clonagem da ovelha Dolly (Campbell et al., 1997). Estas espécies reconstituídas a partir do banco criogênico poderiam ser úteis para gerar exemplares a serem expostos ao público, mas pouca ou nenhuma aplicação teriam em práticas de conservação *in situ*, visto que atualmente, é inviável manter coleções com diferentes indivíduos congelados que representem a diversidade genética de cada espécie, a qual deve ser grande o suficiente para evitar sua extinção no meio natural. Na verdade, muitas das espécies criopreservadas, tal como o Gauro (*Bos gaurus*, boi selvagem indiano), se restringem a amostras de células de um ou dois indivíduos.

Os bancos de DNA, apesar de estarem muitas vezes associados aos bancos criogênicos de amostras vivas, possuem finalidades mais limitadas. A limitação de aplicação dos bancos de DNA em relação aos bancos criogênicos vivos se deve à não preservação da estrutura celular original (membranas, citoplasma, organelas, núcleo). Isto impede, pelo menos em um futuro próximo, o uso das técnicas de reconstrução genômica que permitam propagar clonalmente organismos com fins de conservação *ex situ*. Porém, os bancos de DNA levam uma grande vantagem quanto ao número de amostras, pois estes independem da coleta de material vivo e podem utilizar partes do organismo

geralmente descartadas por experimentos que trabalham com inventariamento e amostragem da biodiversidade.

### ***Criação de Bancos de DNA***

Geralmente, a implantação de bancos de DNA visa estabelecer um inventário genômico de determinados grupos taxonômicos ou a partir de um ou vários ecossistemas. Estas coleções aproveitam todo tipo de material biológico para possibilitar o desenvolvimento de estudos genéticos que são intrínsecos de cada espécie. Visto a incipiente pesquisa genética em exemplares de nossa biodiversidade, muito pouco se sabe dos genomas nativos, por isto a necessidade de se estimular tais iniciativas e promover os estudos da biodiversidade em seu nível mais fundamental, o da diversidade genética.

A coleção de amostras de DNA de espécies animais e vegetais, não apenas autóctones mas também exóticas, é uma atividade presente em vários museus de História Natural e Parques Zoobotânicos de países do primeiro mundo. Enquanto países como o Brasil, com uma biodiversidade tão rica não promoverem o estudo de suas próprias espécies, estas muitas vezes serão objeto de pesquisas estrangeiras, cujo conhecimento adquirido pode não retornar ao nosso país. Atualmente, várias amostras de material biológico saem do país ilegalmente, através da biopirataria (Borém & Santos 2001), principalmente para estudos de bioprospecção na busca de substâncias com princípios ativos e fins farmacológicos, ou de potencial uso biotecnológico.

Vários exemplos de coleções biológicas, com amostras representativas de diversos genomas, podem atualmente ser consultadas via *internet*. Alguns museus, tal como o Museu de História Natural do Instituto Smithsonian (<http://www.mnh.si.edu/rc>), possuem um grande acervo de material biológico do Brasil, e parte deste se encontra na forma de banco de DNA.

Outros bancos de DNA estrangeiros merecem destaque:

*American Type Culture Collection* - <http://www.atcc.org> - banco de células e DNA dos E.U.A. que disponibiliza material biológico para pesquisas científicas.

*World Data Centre for Microorganisms* - <http://wdcm.nig.ac.jp> - página no Japão com coleções de microorganismos e projetos de biodiversidade

*NIAS DNA bank* - <http://www.dna.affrc.go.jp> - Banco de DNA do Instituto Japonês de Ciências Agrobiológicas.

Estes bancos de DNA, situados em grande parte nos países de primeiro mundo, possuem várias amostras dos países megadiversos, incluindo o Brasil. Além de organizarem coleções da biodiversidade representada nos trópicos, atualmente estão propondo também a centralização de todo conhecimento científico acerca da biodiversidade em uma organização chamada *Global Biodiversity Information Facility* – *GBIF* (<http://www.gbif.org>) iniciada pela *OECD* (*Organization for Economic Co-operation and Development*). Estas iniciativas demonstram o grande interesse estrangeiro em nossa biodiversidade e a importância de se iniciar planos para promover seu conhecimento e uso sustentável.

Além dos bancos de DNA, o *National Center for Biotechnology Information* (*NCBI* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), do Instituto Nacional de Saúde dos E.U.A., possui o *Genbank*, um banco de dados público, que possui várias seqüências de DNA, RNA e proteínas depositadas. Neste banco se encontram seqüências destas moléculas para várias espécies, disponíveis para consulta *online* ou acesso a referências, incluindo todos os projetos genoma completos e em andamento. No *Genbank* todas as informações genéticas de uma espécie, ou grupo de espécies, de interesse podem ser recuperadas através da busca pelo táxon no *Taxonomy Browser* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>). Várias espécies brasileiras possuem seqüências de DNA, RNA e proteínas depositadas no *NCBI* freqüentemente por grupos de pesquisas estrangeiros.



Dentre alguns exemplos de coleções existentes no Brasil destaca-se a do Instituto Nacional de Pesquisas na Amazônia - INPA (<http://curupira.inpa.gov.br/colecoes>) com uma página disponibilizando o acervo de espécies vegetais, animais e microorganismos da Amazônia, muitos preservados vivos criogenicamente. Dentro deste acervo se iniciou uma pequena coleção de amostras de tecido e DNA de espécies de peixes e pequenos mamíferos da Amazônia. A Fundação André Tosello de São Paulo também mantém uma coleção criogênica de microorganismos de nossa biota (<http://www.cct.org.br>) mas ainda não disponibiliza a coleção na forma de DNA.

No Brasil, também foram iniciados mega-estudos estratégicos da biodiversidade, tal como a FAPESP tem feito com a indução do projeto BIOTA (<http://www.biota.org.br>) no estado de São Paulo, onde estão gerando um grande conhecimento a respeito da biodiversidade regional brasileira. Parte dos estudos incluem análises genéticas que serão utilizadas para definição de estratégias amplas para a preservação da biodiversidade e melhoria qualidade de vida.

Em 1999, nosso laboratório iniciou um Banco de DNA de espécies da fauna brasileira de vertebrados, principalmente daquela presente no estado de Minas Gerais, associado a vários laboratórios envolvidos com amostragem de biodiversidade (<http://www.icb.ufmg.br/~lbem/ddb>). Mais de 400 espécies, principalmente de aves e mamíferos, encontram-se catalogadas, grande parte obtida de amostras de tecidos de animais mortos ou descartados, ou da coleta de sangue e outros tecidos no campo.

Um projeto junto ao IBAMA/MG (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis) também propiciou que várias amostras fossem incluídas ao banco de DNA devido à grande quantidade de carcaças resultantes de apreensões ou morte nos viveiros. As amostras de tecido permanecem armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  (preferentemente) ou conservadas (álcool 70%, absoluto ou formalina) à temperatura ambiente, as quais são posteriormente submetidas a protocolos convencionais de extração e análise da qualidade do DNA (Sambrook et al., 2001). Amostras de DNA

são então conservadas a  $-20^{\circ}$  C para estudos genéticos posteriores. Este banco de DNA, com metodologias padronizadas de coleta, extração e armazenamento do material genético, deve ser futuramente transferido para o Centro das coleções taxonômicas do ICB/UFMG, em cujo projeto já está planejada a área de instalação do banco de tecidos, extratos e DNA.

### ***Aplicações do conhecimento genômico***

O estudo da variabilidade genética intra e inter-específica é utilizado para se obter uma melhor compreensão da dinâmica de populações em unidades de conservação, quantificação do grau de estruturação geográfica destas populações, medição de graus de diversidade genética e consangüinidade, análises filogenéticas e filogeográficas (Avise et al., 1995).

Os resultados e conclusões destas pesquisas são importantes em vários contextos ecológicos e evolutivos (Meffe & Carrol, 1997). Dentre as principais metas se enquadram: a obtenção de uma melhor compreensão da filogenia das espécies e interação destas na natureza; a quantificação temporal do impacto antrópico e ambiental para espécies e populações; propiciar estratégias de preservação e/ou de manejo de animais adequadas de acordo com critérios de genética populacional; monitorar estratégias de reintrodução de espécies; auxiliar projetos de procriação em cativeiro; permitir o planejamento a médio e longo prazo de preservação dos biomas, onde deve-se considerar a ocorrência de fatores evolutivos que podem levar naturalmente à extinção e transformação das espécies, em contraposição à influência antrópica.

A utilização da análise de DNA na conservação da biodiversidade é uma idéia ainda inovadora e de grande potencial (O'Brien, 1994; Avise et al., 1995). Em meados dos anos 80, as dificuldades de se conseguir a reprodução em cativeiro de guepardos (*Acinonyx jubatus*), levaram O'Brien e seu colegas a realizarem uma série de estudos

de genética molecular. Estes resultaram na descoberta de que existe muito pouca variabilidade genética entre os guepardos da África (O'Brien et al., 1983; 1985). Isto sugeria que os guepardos teriam passado por um gargalo populacional (*bottleneck*), e que seus efeitos se refletem até hoje, sendo ainda agravados pela ação antrópica (Menotti-Raymond & O'Brien, 1993). Estudos com exemplares cativos em zoológicos não alteraram os resultados, porém está permitindo a seleção de indivíduos geneticamente mais distintos para os programas de reprodução em cativeiro. O maior receio dos pesquisadores é a ocorrência de doenças de felinos, como a que afetou o centro de reprodução de guepardos em cativeiro de Oregon, nos E.U.A., que resultou numa mortalidade de 60% da população local (O'Brien, 1994).

Ainda em felídeos, três populações de leões (*Panthera leo*) asiáticos e africanos, duas na África (Serengeti e Ngorongoro) e uma da Ásia (*Gir Forest Sanctuary*) foram analisadas por distintos grupos (Packer et al., 1991; Gilbert et al., 1991; Shankaranarayanan et al., 1997). Estes chegaram à conclusão de que os leões africanos do Serengeti possuem uma variabilidade genética bem alta, típica de uma população sadia e bem estruturada, enquanto a população de Ngorongoro possuía uma baixa variabilidade (cerca de 30%). Porém já se sabia que a população de Ngorongoro era pequena e isolada (Packer et al., 1991). Do mesmo modo, a população de leões asiáticos possui uma baixíssima variabilidade genética, semelhante à dos guepardos (Shankaranarayanan et al., 1997), mas contrariamente ao esperado, se reproduzem muito bem em cativeiro. Um estudo dos leões asiáticos cativos demonstrou que a maioria dos animais são na verdade híbridos de asiáticos e africanos, e seu sucesso de reprodução se deve ao vigor do híbrido (Gilbert et al., 1991). Atualmente os zoológicos estão estabelecendo programas para cruzamentos de leões apenas de linhagens puras, respeitando a separação das subespécies asiáticas e africanas.

Outro caso interessante é o do condor da Califórnia (*Gymnogyps californianus*), que além de uma população pequena e criticamente ameaçada, possuía uma

condrodistrofia, uma malformação das cartilagens de fundo genético. A descoberta de marcadores para esta distrofia permitiu ações de manejo e reprodução em cativeiro visando o acasalamento de indivíduos não possuidores da doença e também de indivíduos geneticamente não aparentados, resultando em um aumento considerável da população (Geyer et al., 1993; Miller, 1995).

Estudos semelhantes também foram realizados em cavalos de Przewalski (*Equus przewalski*), onde foi amostrado o DNA de doze indivíduos selvagens que fazem parte dos programas de reprodução assistida, cuja análise genética foi utilizada para tentar diminuir a consangüinidade (Miller, 1995; Van Dierendonck et al., 1996).

Trabalhos semelhantes aos já citados também estão sendo realizados com rinocerontes negros (*Diceros bicornes*) na África (Walpore et al., 2001), com o puma (*Puma concolor*) nos E.U.A. (Culver et al., 2000), com o panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) na China (Zhou & Pan, 1997) e com vários outros animais ameaçados. No Brasil, estudos de variabilidade genética visando a conservação da ararinha azul (*Cyanopsitta spixii*) foram realizados por Caparroz e colaboradores (2001). Neste estudo foram amostrados sete dos trinta e nove animais existentes em cativeiro e os resultados foram bastante alarmantes. Apesar de apenas um dos animais amostrados ter realmente nascido em cativeiro, a variabilidade genética entre aqueles animais era comparável à de irmãos. Infelizmente, um possível plano para a seleção de um melhor parceiro para o único exemplar livre na natureza foi frustrado pelo trágico desaparecimento deste indivíduo no final de 2000. Porém, planos para a reprodução em cativeiro e possível reabilitação da espécie ainda podem ser traçados, embora a maior parte da biodiversidade genética original desta espécie já tenha se extinguido há tempos.

Estudos de filogeografia (Culver et al., 2000), sistemática e evolução (Nash et al., 1998), são também frutos do conhecimento genômico, e atestam para a importância de bancos de DNA com ampla amostragem tanto em número de espécies quanto em

área geográfica amostrada. A possibilidade de se realizar um estudo espacial e temporal de uma espécie (ou populações) utilizando DNA, semelhante aos realizados no passado com dados morfológicos, pode melhorar ainda mais nosso conhecimento em biogeografia e evolução, revelando as relações de ancestralidade, rotas de migração e padrões de dispersão das espécies (Excoffier et al., 1992; Avise et al., 1995; Culver et al., 2000).

Este tipo de conhecimento pode ser utilizado ainda para definição de áreas de prioridade para a conservação e manejo de espécies, baseando-se em princípios de genética de populações (Avise et al., 1995; Walpole et al., 2000).

No entanto, com a implementação de bancos de DNA cresce ainda mais a necessidade de taxonomistas. Além destes, os sistematistas moleculares também passam a exercer um papel especial, principalmente com as novas leis de preservação do meio ambiente, as quais protegem subespécies e até mesmo populações. Neste sentido, identificações precisas, tanto morfológicas, quanto em nível molecular precisam ser feitas (Benford, 1992; O'Brien, 1994; Blackmore, 1996).

O conhecimento de vários genomas gerado a partir de bancos de DNA pode ser utilizado na identificação molecular de espécies, tal como no *International Whaling Commission*, que fiscaliza e regula a pesca, o comércio e o estudo de cetáceos. Esta comissão utiliza técnicas modernas de análise de DNA para a fiscalização de produtos comerciais, com o intuito de verificar se estes são oriundos de cetáceos e se pertencem a espécies ameaçadas e/ou raras. Estes estudos demonstraram que a venda ilegal de carne de cetáceos ameaçados é uma realidade. Muito da carne comercializada, principalmente no Japão, pertence a espécies de baleia cuja pesca é proibida (Palumbi & Cipriano 1998; Baker et al., 2000). No mesmo estudo, outras amostras de carne, vendidas como se fossem de baleia eram na verdade de outros animais como cães, cavalos, etc. Este tipo de análise não pode ser feita sem uma boa coleção genômica de referência que se inicia com um banco de DNA.

A clonagem de animais mantidos em cativeiro, proposta por Ryder e colaboradores (2000), já está sendo muito discutida (Cohen, 1997) e leva à idéia de que quanto mais um animal se reproduz, mais seu genoma será preservado na próxima geração. Com isso, se clonarmos um animal, digamos, 10 vezes, e se estes se reproduzirem, teremos 95% do seu genoma na próxima geração ao invés de 50% caso um único indivíduo se reproduza (a equação é  $1 - 1/2^n$ , onde  $n$  é igual ao número total da prole). Neste caso, seria evitada a perda de material genético em espécies já naturalmente raras, mesmo que isto represente também uma perda de diversidade genética acelerada pela endogamia do processo de clonagem.

Uma outra possibilidade, também proposta por Ryder (*apud* Cohen, 1997) e por Benford (1992) seria que, futuramente, com o desenvolvimento de novas tecnologias, a variabilidade genética poderia ser aumentada artificialmente em espécies cujo DNA de vários indivíduos esteja preservado, quer na forma de cultura de células, tecidos ou animais congelados, ou ainda como uma amostra pura de DNA. Este banco de células e DNA poderia ser utilizado para recuperar populações de animais em perigo devido a baixa diversidade genética, ou até mesmo para reconstituir uma espécie extinta. Isto poderia se dar: *i*) por inseminação artificial com gametas contendo alelos já perdidos por estas populações; *ii*) por clonagem de um variante não encontrado mais na natureza mas preservado como células; *iii*) ou por adição ou substituição direta dos genes, semelhante às técnicas de geração de animais transgênicos. Obviamente, este tipo de intervenção humana na natureza é altamente questionável do ponto de vista da conservação *in situ* da biodiversidade.

O conhecimento genômico de espécies de nossa biodiversidade pode ser utilizado em estudos evolutivos diversos e projetos de genômica comparada (O'brien et al., 1999; Rubin et al., 2000). A comparação de genomas pode levar à identificação e mapeamento de genes para doenças que acometem homens e animais, e indicar meios para seu diagnóstico, prevenção e tratamento. Novas tecnologias terapêuticas, tais

como a terapia gênica humana, podem ser desenvolvidas a partir do conhecimento de doenças geneticamente homólogas acometendo outros animais. O estudo comparativo de genes ortólogos de distintos clados pode ser utilizado para predição de posições de aminoácidos importantes à função protéica, um parâmetro útil para o prognóstico de câncer ou outras doenças genéticas (Ng & Henikoff, 2001).

Estudos evolutivos comparativos podem ainda levar à descoberta das adaptações moleculares que permitiram organismos a conquistar novos nichos, resistir a agentes infecciosos, explorar novos habitats, etc. Além disto, podem ser utilizados para melhor compreensão dos processos de especiação e processos macroevolutivos tais como a radiação de alguns grupos taxonômicos (O'Brien et al., 1997; 1999; Rubin et al., 2000).

Com fins de bioprospecção, estudos genômicos podem levar à produção e descoberta de produtos gênicos e substâncias da fauna, flora e de microorganismos com finalidades diversas. A maior parte dos estudos de bioprospecção foram feitos em plantas, com a finalidade de se obter novos remédios e terapêuticos (Dixon, 1999; Borém & Santos, 2001). Hoje em dia, diversos produtos, tais como fibras e polímeros alternativos, corantes, aromatizantes e inseticidas naturais, além de diversas proteínas e enzimas utilizadas nas próprias técnicas de bioquímica e biologia molecular, são isolados de uma gama enorme de organismos (Dixon, 1999; Hubbell, 1999; Merkle & Dean, 2000). A existência de um banco de DNA pode permitir uma maior eficiência na busca por estes novos produtos e tecnologias, direcionando estratégias de bioprospecção a certas famílias de plantas, tipos de microorganismos, etc.

Os bancos de DNA podem ser considerados coleções estratégicas para o estudo da biodiversidade, sendo sua implementação, extremamente importante para a moderna ciência da conservação. A possibilidade de manejo e recuperação de espécies em vias de extinção ou, até mesmo extintas, aumentam ainda mais a importância da criação destes acervos genômicos. As aplicações do conhecimento da biodiversidade genética

já estão presentes na pesquisa biotecnológica, nos estudos evolutivos, comparativos, taxonômicos e ecológicos, e atestam o tremendo potencial de uso científico e tecnológico das coleções genômicas.

## **Agradecimentos**

O projeto banco de DNA/UFMG foi financiado com verba da PRPq/UFMG e programa PELD/CNPq. Agradecemos a Beatriz A. Ribeiro, Juliana A. Vianna, Gisele Dantas, Leandro Freitas e Daniela R. Lacerda que participam da amostragem, processamento e catalogação do banco de DNA. Somos também muito gratos a Miguel A. Marini, Marcos Rodrigues, Wilham Jorge, Jaime Bertolucci, André Hirsch e Adriano Paglia pela disponibilização de várias amostras e identificação taxonômica das espécies que constam do banco de DNA do LBEM. Agradecemos também a dois revisores anônimos pelas sugestões ao texto.

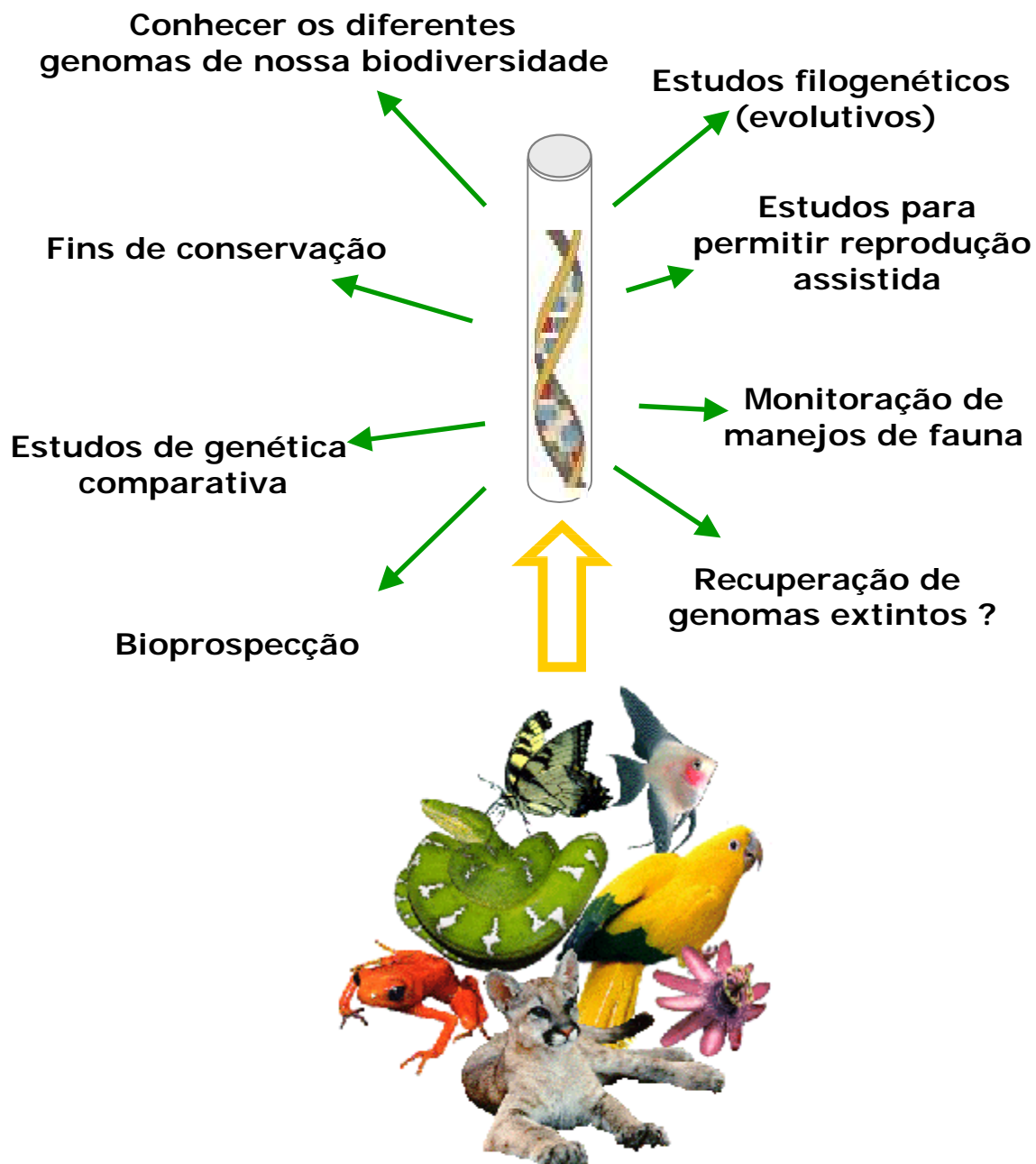


## Referências bibliográficas

- Awise J.C.; Haig S.M.; Ryder O.A.; Lynch M. & Geyer C.J. 1995 - Descriptive genetic studies: applications in population management and conservation biology. *In*: Ballou, J.D. & Fose, T.J. (Ed.) **Population management for survival and recovery**. Columbia University Press, New York. pp. 183-244.
- Baker, C.S.; Lento, G.M.; Cipriano, E. & Palumbi, S.R. 2000. Predicted decline of protected whales based on molecular genetic monitoring of Japanese and Korean markets. - **Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences** **267**: 1191-1199.
- Benford, G. 1992. Saving the "library of life". - **Proceedings of National Academy of Sciences USA** **89**: 11098-11101.
- Blackmore, S. 1996. Knowing the Earth's Biodiversity: Challenges for the Infrastructure of Systematic Biology. - **Science** **274**: 63 – 64.
- Borém, A. & Santos, F.R. 2001. **Biotecnologia Simplificada**. Editora Suprema, Visconde do Rio Branco, MG. 250pp.
- Campbell, K.H.S.; McWhir, J.; Ritchie, W.A. & Wilmut, I. 1997. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. - **Nature** **385**: 810-813.
- Caparroz, R.; Miyaki, C.Y.; Bampi, M.I. & Wajntal, A. 2001. Analysis of the genetic variability in a sample of the remaining group of Spix's Macaw (*Cyanopsitta spixii*, Psittaciformes: Aves) by DNA fingerprinting. - **Biological Conservation** **99**: 307-311.
- Chapim III, F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavorel, S., Sala, O.E., Hobbie, S.E., Mack, M.C. & Diaz, S. 2000. Consequences of changing biodiversity. - **Nature** **504**: 234-242.
- Cohen, J. 1997. Can Cloning Help Save Beleaguered Species? - **Science** **276**: 1329 – 1330.
- Culver M.; Johnson, W.E.; Pecon-Slattey, J. & O'Brien, S.J. 2000. Genomic ancestry of the American puma (*Puma concolor*). - **Journal of Heredity** **91**(3): 186-197.
- Dixon, R.A. 1999. Plant natural products: the molecular genetic basis of biosynthetic diversity. **Current Opinion In Biotechnology** **10**: 192-197.
- Excoffier, L.; Smouse, P.E. & Quattro, J.M. 1992 - Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA data. - **Genetics** **131**: 479-491.

- Geyer, C.J.; Ryder, O.A.; Chemnick, L.G. & Thompson, E.A. 1993. Analysis of relatedness in the California condors from DNA fingerprints. - **Molecular Biology and Evolution** 10(3):571-589.
- Gilbert, D.A.; Packer, C.; Pusey, A.E.; Stephens, J.C. & O'Brien, S.J. 1991. Analytical DNA fingerprinting in lions: Parentage, genetic diversity and kinship. - **Journal of Heredity** 82(5): 378-386.
- Hubbell, J.A. 1999. Bioactive materials. **Current Opinion In Biotechnology** 10: 123-129.
- Mariante A.S.; Egito A.A. 2002 - Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology** 57(1): 223-235.
- Meffe G.K. & Carrol C.R. 1997. - **Principles of Conservation Biology**. 2.ed. Sinauer Associates INC, Massachusetts. pp. 161-201
- Menotti-Raymond, M. & O'Brien, S.J. 1993. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. - **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** 90: 3172-3176
- Merkle, S.A. & Dean, J.F.D. 2000. Forest tree technology. – **Current Opinion In Biotechnology** 11: 298- 302.
- Miller, P.S. 1995. Selective breeding programs for rare alleles: examples from the Przewalski's horse and California condor pedigrees. - **Conservation Biology** 9(5): 1262-1273.
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000 Biodiversity hotspots for conservation priorities. - **Nature** 403: 853-858.
- Nash, W.G.; Wienberg, J.; Ferguson-Smith, M.A.; Menninger, J.C. & O'Brien, S.J. 1998. Comparative genomics: Tracking chromosome evolution in the family Ursidae using reciprocal chromosome painting. - **Cytogenetics and Cell Genetics** 83(3-4): 182-192.
- Ng, P.C. & Henikoff, S. 2001 Predicting deleterious amino acid substitutions. **Genome Research** 11(5):863-874
- O'Brien, S.J. 1994. A role for molecular genetics in biological conservation. - **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** 91: 5748-5755.
- O'Brien, S.J. Wienberg, J. & Lyons, L.A. 1997. Comparative genomics: lesson from cats. - **Trends in Genetics** 13(10) 393-399.
- O'Brien, S.J.; Roelke, M.F.; Marker, L.; Newman, A.; Winkler, C.A.; Meltzer, D.; Colly, L.; Evermann, J.F.; Bush, M. & Wildt, D.E. 1985. Genetic Basis For species vulnerability in the cheetah. - **Science** 227:1428-1434

- O'Brien, S.J.; Wildt, D.E.; Goldman, D. Merrill, C.R. & Bush, M. 1983. The cheetah is pauperate in genetic variation. - **Science** 221: 459-462
- O'Brien, S.J.; Menotti-Raymond, M.; Murphy, W.J.; Nash W.G.; Wienberg, J.; Stanyon, R.; Copeland, R.G.; Jenkins, N.A.; Womack, J.E. & Graves J.A.M. 1999 The Promise of Comparative Genomics in Mammals. - **Science** 286: 458-481.
- Packer, C.; Pusey, A.E.; Rowley, H.; Gilbert, D.A.; Martenson, J.S. & O'Brien, S.J. 1991. Case study of a population bottleneck: lions of the Ngorongoro crater. - **Conservation Biology** 5(2): 219-230.
- Palumbi, S.R. & Cipriano, F. 1998. Species identification using genetic tools: The value of nuclear and mitochondrial gene sequences in whale conservation. - **Journal of Heredity** 89(5): 459-464.
- Rubin, G.M.; Yandell, M.D.; Wortman, J.R.; Miklos, G.L.G.; Nelson, C.R.; Hariharan, I.K.; Fortini, M.E.; Li, P.W.; Apweiler, R.; Fleischmann, W.; Cherry, J.M.; Henikoff, S.; Skupski, M.P.; Misra, M.; Ashburner, M.; Birney, E.; Boguski, M.S.; Brody, T.; Brokstein, P.; Celniker, S.E.; Chervitz, S.A.; Coates, D.; Cravchik, A.; Gabrielian, A.; Galle, R.F.; Gelbart, W.M.; George, R.A.; Goldstein, L.S.B.; Gong, F.; Guan, P.; Harris, N.L.; Hay, B.A.; Hoskins, R.A.; Li, J.; Li, Z.; Hynes, R.O.; Jones, S.J.M.; Kuehl, P.M.; Lemaitre, B.; Littleton, J.T.; Morrison, D.K.; Mungall, C.; O'Farrell, P.H.; Pickeral, O.K.; Shue, C.; Vosshall, L.B.; Zhang, J.; Zhao, Q.; Zheng, X.H.; Zhong, F.; Zhong, W.; Gibbs, R.; Venter, J.C.; Adams, M.D. & Lewis, S. 2000. Comparative Genomics of the Eukaryotes – **Science** 287: 2204-2215.
- Ryder, O.A.; McLaren, A; Brenner, S.; Ya-Ping, Z. & Benirschke, K. 2000. - DNA banks for endangered animal species. - **Science** 288: 275-277.
- Sambrook, J.; Russell, D.W. & Sambrook, J. 2001. - **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3.Ed. CSHL press, New York. 2100 pp.
- Shankaranarayanan, P.; Banerjee, M.; Kacker, R.K.; Aggarwal, R.K. & Singh, L. 1997. Genetic variation in Asiatic lions and Indian tigers. - **Electrophoresis** 18(9): 1693-1700
- Van Dierendonck, M.C. & Wallis de Vries, M.F. 1996. Ungulate reintroductions: experiences with the Takhi or Przewalski horse (*Equus ferus przewalskii*) in Mongolia. - **Conservation Biology** 10(3): 728-740.
- Walpole, M.J.; Morgan-Davies, M.; Milledge, M.; Bett, P. & Leader-Williams, N. 2001. Population dynamics and future conservation of a free-ranging black rhinoceros (*Diceros bicornis*) population in Kenya. - **Biological Conservation** 99(2): 237-243.
- Zhou, Z.; & Pan, W. 1997. Analysis of the viability of a giant panda population. - **Journal of Applied Ecology** 34(2):363-374.



**Figura 1** - Possibilidade de estudos genômicos da Biodiversidade.

A partir de amostras depositadas no Banco de DNA pode-se desenvolver diversos estudos no nível genético para conhecer, conservar e explorar racionalmente a biodiversidade.