

BIOTECNOLOGIAS COMO FERRAMENTAS PARA O DESENVOLVIMENTO DO NORDESTE DO BRASIL

(Biotechnologies as tools for the development of northeast Brazil)

José Ferreira NUNES^{1*}; Cristiane Clemente de Mello SALGUEIRO²

¹Núcleo Integrado de Biotecnologia da Universidade Estadual do Ceará (UECE), Av. Dr. Silas Munguba, 1700. Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60.714-903;

²RENORBIO/PPGBiotec (UECE). *E-mail: nunesuece@gmail.com

RESUMO

A biotecnologia tem sido um ramo de estudo diferencial para diversos setores da sociedade, apresentando, através de bioprodutos e bioprocessos, melhorias para o avanço e desenvolvimento da região Nordeste do Brasil. Vale pontuar que um importante meio que traz anualmente acréscimos inovadores à área biotecnológica é o setor acadêmico, que através de cursos *stricto sensu* a nível de mestrado e doutorado, promovem pesquisas relevantes para vários setores como economia, agroindústria, saúde, dentre outros. Exemplos disso são: o curso de Doutorado em Biotecnologia da RENORBIO) e o Programa Profissional de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal (PPGBiotec). O presente artigo se sobre o percurso trilhado pelos cursos *stricto sensu* mencionados, bem como ressalta a relevância da Biotecnologia para a região Nordeste do Brasil, em seus diferentes campos de investigação, com ênfase nos Recursos Naturais, Agropecuária e Saúde. Exemplificamos as biotecnologias utilizando a água de coco que vêm sendo trabalhadas desde os anos 1980's e sua evolução até os dias atuais. Com base em toda a potencialidade da Região Nordeste para a geração de bioprodutos e bioprocessos, ressaltamos que os mesmos só serão úteis se realmente forem tratados como inovação tecnológica, gerarem nota fiscal e impactarem positivamente para o bem estar da sociedade.

Palavras-chave: Biotecnologia, bioprodutos, bioprocessos, *stricto sensu*, água de coco.

ABSTRACT

Biotechnology has been a branch of differential study for various sectors of society, presenting, through bioproducts and bioprocesses, improvements for the advancement and development of the Northeast region of Brazil. It is worth noting that an important means that annually brings innovative additions to the biotechnological area is the academic sector, which through *stricto sensu* courses at the master's and doctoral level, promote relevant research for various sectors such as economics, agribusiness, health, among others. Examples of this are: the Doctorate course in Biotechnology (RENORBIO) and the Professional Graduate Program in Biotechnology in Human and Animal Health (PPGBiotec). This article is about the path taken by the *stricto sensu* courses mentioned, as well as emphasizing the relevance of Biotechnology for the Northeast region of Brazil, in its different research fields, with emphasis on Natural Resources, Agriculture and Health. We exemplify biotechnologies using coconut water that has been worked since the 1980's and its evolution to the present day. Based on all the potential of the Northeast Region for the generation of bioproducts and bioprocesses, we emphasize that they will only be useful if they are really treated as technological innovation, generate invoices and have a positive impact on society's well-being.

Key words: Biotechnology, bioproducts, bioprocesses, *stricto sensu*, coconut water.

INTRODUÇÃO

Alguns setores da economia são decisivos para o desenvolvimento de uma dada região. Um exemplo são as atividades intensivas em conhecimento. Pelo fato de gerarem produtos com maior valor agregado, elas dinamizam os setores e estabelecem condições para a evolução social, econômica e institucional e, conseqüentemente, para a elevação dos índices quantitativos e qualitativos, qualidades necessárias ao desenvolvimento. Esses setores intensivos do

conhecimento propiciam o surgimento de inovações de processos e de produtos, de modo que o grau de competitividade se torna função da capacidade de gerar conhecimentos e/ou utilizá-los para a criação de produtos e processos (JESUS *et al.*, 2013).

Ao reduzir os custos de produção, agilizar o processo produtivo, permitir a criação de produtos e outras ações, alguns tipos de tecnologias afetam o grau de competitividade das empresas e permitem aos setores intensivos em conhecimento compor a vanguarda tecnológica, uma tendência para a inovação. Entre essas tecnologias, destaca-se a Biotecnologia, em razão do seu potencial de impactar as economias locais com inovações, aumentar o potencial competitivo e mercadológico das empresas, melhorar a qualidade de vida da população e promover o bem-estar social (JESUS *et al.*, 2013).

De acordo com a Associação Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI), o mercado global de Biotecnologia teve um crescimento anual de 13,4% no período de 2002-2006. Em 2006 foi gerada uma receita de US\$ 153,7 bilhões. O setor que mais cresceu foi o de saúde humana (62,5%) (ABDI, 2010).

Já quando se trata da distribuição das empresas de Biotecnologia no território brasileiro, nos deparamos com uma disparidade socioeconômica, de renda e técnico-científica. O Nordeste é uma das maiores regiões do país, com o maior número de Estados e também uma das mais populosas. Porém, nessa região, se verificam disfunções econômicas e sociais, atraso tecnológico e científico, baixa escolaridade, bem como elevado grau de pobreza e concentração de renda. E isso se reflete em uma maior concentração das empresas de Biotecnologia nos Estados de São Paulo e Minas Gerais (JESUS *et al.*, 2013).

O desenvolvimento regional do Brasil parece estar intrinsecamente relacionado com a formação acadêmica, e sua qualidade, ao número de bioprodutos ou bioprocessos gerados pelos conhecimentos tecnológicos advindos da Biotecnologia. Para compreensão de tal afirmativa, basta destacar que o Brasil possui aproximadamente 10.000 doutores trabalhando direta ou indiretamente com pesquisas (IBGE, 2020).

Deste total de doutores, 50% estão na região Sudeste e 13% na região Nordeste, o que equivale a 5.000 e 1.300 doutores, respectivamente. “Coincidentemente”, o PIB da região Sudeste é 50,29% e da região Nordeste é 13,59%, havendo uma correlação estreita e significativa entre o número de doutores e o desenvolvimento regional (IBGE, 2020).

Diante dessa discrepância, em uma das reuniões do Fórum de Pró-Reitores do Nordeste (FOPROP), ocorrida em 2005 em Recife-PE, foi idealizado o Doutorado em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), que teve seu primeiro Coordenador o então Pró-Reitor de Pós-Graduação e Pesquisa da UECE Prof. Dr. José Ferreira Nunes e como Vice Coordenador o então Pró-Reitor de Pós-Graduação e Pesquisa da UFC Prof. Dr. Odorico de Moraes Filho.

A RENORBIO já havia sido criada em 04 de novembro de 2004, pelo então Ministro da Ciência e Tecnologia, Dr. Eduardo Campos. Mas só na supracitada reunião do FOPROP foi que nasceu a ideia, por parte de todos os Pró-Reitores do Nordeste, de acoplar a esta Rede de Biotecnologia um curso de doutorado em rede para todos os Estados do Nordeste, incluindo o Espírito Santo, perfazendo dez Estados que teriam as suas universidades, institutos e a EMBRAPA como parceiros acadêmicos e de pesquisas.

Foi então o primeiro curso de Biotecnologia no nível de Doutorado na modalidade em Rede aprovado pela CAPES no Brasil. Foi também o primeiro a ter empresas associadas já na

proposta da APCN, buscando fomentar a parceria universidade-empresa. O pioneirismo também ocorreu no acesso de alunos ao doutorado sem que obrigatoriamente possuíssem o título de mestrado, mas que comprovassem em seu currículo já estarem envolvidos em projetos de pesquisa nas áreas de concentração do curso (saúde, recursos naturais, agropecuária ou industrial). Na primeira turma foram selecionados 100 alunos, destes, 40 somente tinham a graduação.

Logo após a aprovação da APCN na RENORBIO em 2006, o então Secretário da Ciência e Tecnologia, Dr. Luís Antônio Barreto de Castro, lançou o desafio de que o Nordeste poderia formar em 2020 mil doutores. Bem, a tarefa foi cumprida. Já no final de 2019 tínhamos 986 doutores formados, 786 patentes depositadas, 4.440 publicações científicas, contribuindo com 30% da produção em Biotecnologia do Brasil. Hoje estamos com 572 alunos matriculados, 268 docentes/pesquisadores e 38 instituições. E tudo isso impactou positivamente no desenvolvimento da região Nordeste do Brasil.

DESENVOLVIMENTO

A biotecnologia como estratégia e modelo de ciência aplicada

A biotecnologia é o uso de conhecimentos sobre os processos biológicos e sobre as propriedades dos seres vivos com o fim de resolver problemas ou de criar bioprodutos ou bioprocessos de utilidade à sociedade.

O primeiro processo biotecnológico do mundo foi o fermento para fabricar o pão. Existem outros pioneiros, como Pasteur e Alexander Fleming, que eram biotecnologistas e que utilizaram o “bolor ou mofo” para produção de medicamentos no combate às doenças (penicilina é um exemplo até hoje), merecendo destaque: Biotecnologia Antiga – vinho, cerveja, iogurte, pão e outras aplicações na agroindústria; Biotecnologia Moderna – aquela que faz uso da bioquímica, embriologia e da informação genética oriunda da pesquisa biológica molecular ou celular.

Século XXI – Século das revoluções científicas

O século XXI foi o das invenções, das leis de Newton. Estamos no século em que as energias oriundas de combustíveis fósseis (petróleo, carvão e gás) deverão ser substituídas por fontes não poluentes e renováveis (solar, eólica, biomassa).

A revolução biomolecular, através da decodificação do DNA, dará suporte ao fortalecimento da Biotecnologia e da Engenharia Genética.

A revolução quântica, também conhecida como nanotecnologia, através do estudo de manipulação da matéria em escala atômica ou molecular e pelo estudo do átomo e das partículas subatômicas.

A inteligência artificial – super computadores assumirão cada vez mais o controle da gestão dos processos produtivos.

Deve-se lembrar que hoje:

- Morrem mais pessoas de velhice do que de doenças infecciosas;
- Morrem mais aquelas que comeram demais do que aquelas que comeram de menos.

Em 2010, a fome e a subnutrição mataram aproximadamente um milhão de pessoas, enquanto a obesidade matou três milhões. Isso faz-se pensar que “ciência é o conhecimento organizado e sabedoria é a vida organizada.

Infelizmente, a ciência acumula conhecimento mais rápido do que a sociedade acumula sabedoria!

O Ministério da Indústria e Comércio do Japão listou as tecnologias que alavancarão a prosperidade dos países no século XXI: Microeletrônica; Biotecnologia; Nanotecnologia e Ciência dos Materiais; Telecomunicação; Fabricação de Aeronaves; Máquinas, Ferramentas e Robôs; Computação: hardware e software.

Todas estas prioridades deverão estar à disposição da humanidade contribuindo para: a cura de doenças; maior produção de alimentos (melhor distribuição); preservação do meio ambiente; aumento da expectativa de vida; promoção da paz e igualdade entre os povos. Só assim teremos um mundo fraterno e mais humano.

Três inovações contribuíram para a biotecnologia moderna:

✓ Estruturação química do DNA na forma de dupla hélice, podendo assim se dizer que ela poderia ser submetida à análise e síntese (Jim Watson e Francis Crick).

✓ A descoberta do DNA Recombinante, que após reunirem fragmentos de DNA de bactérias e de camundongos e introduzi-los num tubo de ensaio com microrganismos se observava que o material genético estranho era copiado quando as células se duplicavam – chamada reação em cadeia da polimerase (Stanley Cohen e Herbert Boyer, 1950);

✓ PCR que possibilitou amplificar quantidades mínimas de DNA para melhor serem analisados.

Essas três inovações tornaram possível a reprogramação de seres vivos e microrganismos, plantas e animais, como também, de produtos farmacêuticos cada vez mais eficazes. A partir do conhecimento da estrutura do DNA iniciou-se através da biologia molecular.

Flávio Finardi Filho, professor da USP escreveu:

“A biotecnologia está contribuindo para a melhoria da qualidade de vida em diversos aspectos. Os benefícios dessa ciência para o consumidor já são notados nas indústrias farmacêuticas, na alimentação e em outras áreas, como a da medicina, na produção industrial e pecuária. Além de aumentar a oferta de alimentos e devolver produtos mais nutritivos, ela deverá ser capaz, em breve, de reduzir a quantidade de substâncias indesejáveis nos alimentos, como as que naturalmente podem levar a reações alérgicas”.

Os transgênicos, considerados os principais produtos resultantes da Biotecnologia e Engenharia Genética, são estruturas que recebem mais genes de outro organismo e espécies. Apresentam características novas e especiais, p.ex.: uma planta que tem sua qualidade nutricional melhorada com gene de outro organismo; plantas resistentes a insetos que infestam plantações de frutas e hortaliças; plantas que demoram mais para amadurecer, reduzindo as perdas na comercialização; e plantas com valor nutricional enriquecido (como o arroz e o feijão com mais vitaminas).

Água de coco nas biotecnologias da reprodução animal

Por volta de 1985, surgiu a ideia de aproveitamento da água de coco na conservação *in vitro* do sêmen caprino, fundamentada no exposto a seguir.

Desde 1957, o pesquisador Roy encontrou na gema de ovo uma enzima que, em contato com o plasma seminal do macho caprino, coagulava o sêmen. Essa enzima é secretada pelas glândulas bulbouretrais ou de Cowper. Trabalhos posteriores identificaram-na como sendo uma fosfolipase (“A” e “C”) que, em contato com os fosfolípidios dos diluentes seminais utilizados, geram no meio substâncias como os ácidos graxos e lisolecitinas, que são tóxicas aos espermatozoides, lesionando a membrana espermática.

Quais as possíveis soluções indicadas para resolver o processo de conservação do sêmen caprino? Uma delas seria proceder a cowperectomia, cirurgia de difícil execução, de pouca viabilidade prática e baixa efetividade, pois as ilhotas dos músculos que ficam em torno das glândulas de Cowper continuam secretando a fosfolipase, mesmo em pequenas quantidades. Outra solução poderia ser a lavagem do sêmen, onde se adiciona uma solução de Krebs-Fosfato ao sêmen, aloca em tubos, acondiciona em centrífuga, procede a centrifugação (550 G por 30 min.) e descarta o sobrenadante (plasma seminal), repetindo o procedimento mais uma vez.

Em 1982, Nunes identificou que essa enzima, a fosfolipase, era secretada pelas glândulas de Cowper e participava da composição do plasma seminal. No estudo, foi realizada uma ultrafiltração do plasma seminal em Coluna de Sephadex G100, no pique de saída da filtração na posição “3”, que correspondeu ao peso molecular da fosfolipase “C”. Esta enzima é a mesma presente no veneno da cascavel, que lisa as membranas dos glóbulos vermelhos e provoca hemorragias por todas as cavidades do corpo após a picadura destas serpentes.

Na estação sexual dos caprinos em latitude norte, predominam as secreções das vesículas seminais, sendo mínimas as das glândulas de Cowper. Quando da estação não-sexual, as vesículas seminais se hipotrofiam devido à diminuição na produção de testosterona por serem andrógino-dependentes. A redução é de 1/3 comparada à estação sexual (verão e outono).

Quando chega o inverno europeu (latitude norte), mais precisamente no dia 21 de dezembro, dia mais curto do ano (oito horas luz e 16 horas de escuro). Nesse momento, as vesículas seminais já estão diminuindo suas secreções e as glândulas de Cowper se hipertrofiam e secretam basicamente a fosfolipase, são prolactina-dependentes (NUNES, 1982), diminuindo bastante a libido, tornando-a praticamente inexistente. Somente os animais acostumados a ejaculares em vagina artificial em presença de uma fêmea estrogenada e em estro o fazer por um ato reflexo, mesmo sem libido.

Já quando chega o dia 21 de junho, dia mais longo do ano (16 horas luz e oito horas de escuro), se inicia todo um processo fisiológico que culmina com a estação sexual. A partir deste dia, a retina dos olhos dos animais consegue detectar as diferenças de luminosidade diárias, culminando com o mês de setembro, que apresenta 12 horas luz e 12 horas escuridão, ou seja, a duração dos dias é igual a das noites. Nesse momento, se inicia a estação sexual. A testosteronemia circulante, três vezes maior em estação sexual, é responsável pelo aumento da libido e pela hipertrofia das vesículas seminais, com conseqüente aumento no volume do plasma seminal.

Nesse mecanismo hormonal, a melatonina é o maestro, sendo responsável pelas alterações em nível de hipófise, causando variações hormonais nos animais criados em latitude norte ou sul.

Quando se iniciou o trabalho de tecnologia do sêmen em Sobral em 1982, na EMBRAPA Caprinos, se coletava sêmen o ano inteiro, pois as variações de horas-luz são mínimas, aproximadamente 23 minutos.

A problemática da melhoria do sêmen sempre passava por um problema que seria atribuído à época seca e chuvosa nessa região, com temperaturas mais amenas na época chuvosa e mais altas na época seca.

A utilização da água de coco veio solucionar os problemas de “lavagem” do sêmen ou da cowperectomia e viabilizar a criopreservação dos espermatozoides em épocas do ano distintas sem apresentar variações na qualidade do sêmen trabalhado.

A utilização de um diluente sem a presença de fosfolipídios, não permite a reação enzimática da fosfolipase em contato com os fosfolipídios, pois a água de coco não apresenta gordura e, conseqüentemente, não existe a liberação para o meio de ácidos graxos e lisolecitinas. Não apresentando fosfolipídios, mas sim, todos os aminoácidos essenciais e não-essenciais, bem como frutose, inulina, minerais (potássio, sódio, cálcio), além de fatores de crescimento como o ácido 3-indol acético (IAA). O IAA promove aumento na motilidade/cinética espermática quando comparado aos diluentes atualmente disponíveis no mercado.

A utilização da biotecnologia da água de coco na preservação do sêmen de animais domésticos foi o grande salto inicial para a implantação do primeiro curso de Especialização da Faculdade de Veterinária, que mais tarde se transformou no primeiro mestrado da UECE, “Produção e Reprodução de Pequenos Ruminantes”. Em 2000, transformou-se no primeiro Doutorado da UECE, sendo então denominado Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, atualmente com nota 6 na CAPES.

A água de coco já foi utilizada como meio de preservação seminal de várias espécies de mamíferos (caprinos, ovinos, bovinos, canídeos, felinos, bubalinos, suínos, equinos, primatas), incluindo o homem, peixes e aves.

A água de coco em pó como bioproduto em bioprocessos tecnológicos

Por ser rica em nutrientes, a água de coco é susceptível de contaminação e, por isso, de difícil conservação. O caráter estéril da água de coco só é mantido no interior do fruto íntegro, sujeitando-se ao desenvolvimento microbiano quando exposta ao ambiente por conta da abertura do fruto.

A água de coco *in natura* experimentada com sucesso por muitos em processos biotecnológicos encontrou, através dos tempos, dificuldade de expansão, calcada principalmente no fato da não reprodutibilidade dos resultados decorrentes, sobretudo, do uso incorreto de tal insumo.

Neste contexto, em 1997 iniciou-se, no Estado do Ceará, um estudo coordenado pelos pesquisadores Cristiane Clemente de Mello Salgueiro, João Monteiro Gondim e José Ferreira Nunes que levou à padronização do fruto que seria o ideal para a utilização em processos biotecnológicos. Uma vez selecionado o fruto ideal, buscou-se a estabilização da água de coco

na forma de pó (ACP), fato logrado no início de 2002, permitindo a conservação das suas características benéficas e facilitando o seu uso em regiões onde não se disponham do fruto (SALGUEIRO *et al.*, 2002).

Com base nos primeiros resultados obtidos com a água de coco *in natura*, a sua padronização e estabilização na forma de pó, em não perdendo suas características físico-químicas, garante a simplificação de sua utilização, podendo representar uma alternativa para a difusão de várias biotecnologias.

Tal fato propiciou a padronização dos meios de conservação até então em estudo, não só para sêmen como para outros tipos celulares. Esses meios de conservação devem levar em conta as características de pH, osmolaridade e composição que possam influenciar diretamente na capacidade de manter as células viáveis após certo tempo. Em relação ao pH e osmolaridade, quanto mais próxima às condições fisiológicas (300 mOsm/L e pH 7.0), melhor a capacidade do meio para preservar a vitalidade das células.

Já que as amostras são diretamente secas e transformadas em pó, as reações são inibidas pela mudança de fase e, portanto, mantêm inalterada todas as suas qualidades. Os cálculos de rendimento permitem restituir, quando de sua reconstituição em água destilada, os parâmetros originais do líquido endospermico exigidos na manutenção de suas propriedades.

O processo de produção de água de coco em pó se baseia numa sequência de procedimentos. Conforme a finalidade do produto, o fruto é selecionado em função de suas propriedades físico-químicas, como: volume, peso, diâmetro do albúmen, pH, osmolaridade, teor de carboidratos, teor de aminoácidos, teor de minerais, dentre outros. A obtenção do fruto é iniciada pela rigorosa seleção e higienização do mesmo, seguida de colheita do líquido endospermico do coco (água de coco), sob forma asséptica, realizada amostragem após a filtração. O líquido filtrado é homogeneizado e bombeado para o sistema de secagem. Submetidas a um tratamento térmico, a mostra é seca e transformada em um pó, destituído de água livre, com alta solubilidade (SALGUEIRO *et al.*, 2019).

A água de coco desidratada é um produto minimamente processado, obtido a partir de um processo adequado de desidratação, cujo teor de umidade seja igual ou inferior a três por cento.

Tal processo está baseado na padronização e estabilização da água de coco na forma de pó (ACP) e na subsequente formulação dos meios de conservação, onde são acrescentados aditivos específicos, dependendo do tipo de material biológico a ser conservado. Referidos meios poderão ser utilizados para a conservação celular de todas as espécies animais, incluindo o homem.

A relação custo-benefício dos meios de conservação seminal é altamente favorável, e é de simples preparo e utilização. O meio é acondicionado em sachês na forma de pó até seu uso, adicionado de água destilada, homogeneizado e pronto para ser utilizado, já com pH e osmolaridade ajustados ao sêmen da espécie.

O produto básico (líquido endospermico do coco), em sua forma processada, confere estabilidade e longevidade de prateleira, sem problemas de acondicionamento, e supera as tecnologias de conservação conhecidas, uma vez que mantém as propriedades inerentes do produto original. A uniformidade do produto, obtida mediante rigoroso controle de processamento, em condições específicas, leva à manutenção dos valores agregados do endosperma líquido do coco.

A dinâmica biotecnológica avança as fronteiras do conhecimento e concomitantes pesquisas inovadoras medeiam à construção e reprodução de bioprocessos e/ou bioprodutos. Neste âmbito, ampliam-se oportunidades e novos desafios. A água de coco é uma fonte natural com potencial gerador de bioprocessos e/ou bioprodutos que remonta longas décadas. Nos caminhos percorridos, avultaram-se evidências e consolidaram-se experiências sobre as riquezas naturais e o potencial científico da água de coco. Com a introdução de pesquisas direcionadas para utilização da água de coco na reprodução animal, com resultados satisfatórios, ampliaram-se, bastante, as possibilidades e os avanços na área de bioprocessos e/ou bioprodutos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A criação de cursos como a RENORBIO e o PPGBiotec, formando recursos humanos qualificados em áreas tecnológicas estratégicas, impactaram significativamente na sócio-economia da região Nordeste. Apesar de todas as dificuldades do Nordeste, as atividades de Biotecnologia têm potencial de crescimento na Região. Alguns Estados como Bahia, Pernambuco, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba dispõem de boas universidades que realizam pesquisas. Isso constitui uma possibilidade de *spillovers* e *spin-offs* de empresas de Biotecnologia, sobretudo sob a forma de *clusters* ou outro tipo de aglomeração que forme uma rede ou sistema setorial de inovação. Da mesma forma que o modelo desenvolvido na região do Vale do Silício nos Estados Unidos, o modelo de cursos de Biotecnologia em Rede poderá transformar a Região Nordeste no “Vale do Carbono”. Com base em toda a potencialidade da Região Nordeste para a geração de bioprodutos e bioprocessos, ressaltamos que os mesmos só serão úteis se realmente forem tratados como inovação tecnológica, gerarem nota fiscal e impactarem positivamente para o bem-estar da sociedade.

REFERÊNCIAS

- ABDI. Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial. Biotecnologia: iniciativa nacional de inovação. Brasília/DF, 2010. Disponível em: <<http://www.abdi.com.br/Estudo/Panorama%20Setorial%20Biotecnologia.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2020.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produto Interno Bruto – PIB. 2020. Disponível em: < [https://www.ibge.gov.br/explica/PIB.php#:~:text=O%20que%20%C3%A9%20o%20PIB&text=O%20PIB%20do%20Brasil%20em,%24%202%20003%2C5%20bilh%C3%B5es.](https://www.ibge.gov.br/explica/ PIB.php#:~:text=O%20que%20%C3%A9%20o%20PIB&text=O%20PIB%20do%20Brasil%20em,%24%202%20003%2C5%20bilh%C3%B5es.)>. Acesso em: 12/03/2021.
- JESUS, J.A.; OLIVEIRA, É.A.; NOLASCO, J.F. Biotecnologia e desenvolvimento regional: Uma análise do nordeste brasileiro. Caderno de Ciências Sociais Aplicadas, v.15, p.99-120, 2013.
- NUNES, J.F. Fisiologia sexual do macho caprino. Boletim de Pesquisa. Sobral-CE: EMBRAPA - CNPC, n.5, 1982. 41p.

SALGUEIRO, C.C.M.; GONDIM, J.M.; NUNES, J.F. Meio de conservação de células espermáticas e processo de obtenção de fração constituinte do meio de conservação de células espermáticas. PI0203590-1. 2002. (Patente)

SALGUEIRO, C.C.M.; NUNES, J.F.; REGADAS, R.P. Biotecnologia como ferramenta de desenvolvimento para o nordeste do Brasil. 1ª ed., Fortaleza: EdUECE, 2019. 154p.