



## VAN UDEN POR ELE PRÓPRIO

Em Dezembro de 1977, a propósito duma tarefa de que fui encarregado pelo então Conselho de Investigação do Centro de Biologia do Instituto Gulbenkian de Ciência gravei as conversas que tive com os membros do quadro científico. O que se segue é a transcrição do depoimento do Professor Nicolau van Uden como Investigador e Chefe do Grupo de Microbiologia.

**A. Madeira Lopes**  
**Abril de 1998**

Quando jovem médico, fiquei interessado em doenças tropicais e da pele e tinha uma vaga e romântica intenção de passar a minha futura vida profissional em remotos países tropicais.

Tendo migrado para Portugal por razões familiares, passei cerca de dois anos com um dermatólogo do Instituto Português de Oncologia e duas tardes por semana com o legendário Professor Aldo Castellani, que tinha um laboratório muito pequeno e mal apetrechado no velho Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Ao Professor Castellani se devem as descobertas dos agentes dum grande número de doenças infecciosas tropicais. Embora de idade já bem avançada na altura, continuava ainda a receber doentes de todo o mundo e a isolar leveduras, bactérias e fungos filamentosos a partir das suas lesões. A minha tarefa consistia em manter a sua colecção de culturas e ajudá-lo nos isolamentos.

Em 1950, o micólogo português J. Pinto Lopes, da Faculdade de Ciências de Lisboa, tinha regressado duma estada em Paris, com Roger Heim, com quem tinha estudado poliporáceas e outros fungos destruidores da madeira. O seu professor, e chefe do Instituto de Botânica da Faculdade de Ciências de Lisboa, permitiu que ele se instalasse num pequeno edifício decrépito que tinha sido armazém de sementes de plantas do Jardim Botânico. Pinto Lopes, com um mínimo de ajuda financeira, converteu essa casa nos primórdios dum pequeno laboratório que consistia, nos seus anos iniciais, do seguinte: alguns bancos de madeira, um autoclave, duas estufas de incubação, um frigorífico, um tanque para lavar material de vidro, dois microscópios monoculares, umas centenas de tubos de ensaio, caixas de Petri, balões de Erlenmeyer e material afim. Havia ainda uma pequena despensa com preciosos produtos químicos, como glucose, sais, peptona, agar e corantes. Convidou-me para iniciar, nessas "cómodas e agradáveis instalações", uma Secção de Micologia Médica como parte do "grande nome" de Departamento de Micologia do Instituto de Botânica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Durante os primeiros anos éramos extremamente pobres de equipamento, material de vidro, produtos químicos e literatura. Lembro-me, por exemplo, de ter cortado vidros partidos das janelas para arranjar uma colecção de lâminas para trabalho de microscópio. As lamelas nunca se deitavam fora: eram sim desinfectadas, lavadas e usadas vezes e vezes sem conta. Ainda recordo o meu enorme contentamento quando recebi de presente, dalguém que trabalhava num instituto médico um pouco mais rico, umas pequenas porções de vitaminas e de aminoácidos.

Contudo, realizava-se trabalho, obtinham-se resultados, publicavam-se artigos em revistas de prestígio, apareciam estudantes que queriam trabalhar connosco e gradualmente, começava a surgir algum apoio financeiro de fontes governamentais. Mas os subsídios eram pequenos não excedendo, nos melhores anos, qualquer coisa como trinta mil escudos. Isto só mudou de forma radical quando a Fundação Gulbenkian entrou em cena, nos anos 60.

A minha experiência pessoal de 10 anos de extrema pobreza em investigação biológica, convenceu-me de que é possível levar a cabo trabalho científico produtivo se o elemento humano for capaz e motivado para seleccionar os assuntos da sua investigação que estiverem de acordo com os recursos disponíveis. Para fazer isso bem feito é necessário alguma informação científica. Na verdade, o aspecto mais limitante da investigação biológica em países sub-desenvolvidos reside, na minha experiência, não na relativa falta de equipamento adequado ou de produtos químicos mas na dificuldade de acesso a jornais científicos e a livros de texto actualizados.

O meu trabalho consistia, originalmente, no isolamento de fungos de casos de tinha, sua identificação e estudo de alguns aspectos taxonómicos. A experiência adquirida neste campo permitiu-me, mais tarde, levar a cabo, em Moçambique, uma busca dos fungos da tinha. O alargamento do interesse em micologia médica e veterinária conduziu à pesquisa em Portugal e em Moçambique, da sensibilidade à histoplasmina e à coccidioidina, do aborto micótico em bovinos, e da descrição do agente da piedra preta em mamíferos africanos.

No início dos anos 50, enquanto estudava a patogenia animal dum fungo filamentoso, chamado *Acladium castellanii*, isolei casualmente, dos órgãos interiores do rato, uma estranha levedura que não crescia nos meios de cultura usuais, e em meios ricos só crescia acima de 25°C. A literatura de que dispunha não mencionava a existência desta levedura. Buscas posteriores de literatura de taxonomia de leveduras, efectuadas através de amigos na Holanda, permitiram-me montar as técnicas de identificação de leveduras e descrever a levedura isolada como uma espécie nova, *Torulopsis pintolopesii*. Mais tarde, de colaboração com estudantes que vieram trabalhar comigo, descrevi ainda outras espécies novas de leveduras, habitantes obrigatórios do tubo digestivo de roedores, de aves e de porcos, e que são incapazes de crescer à temperatura ambiente, assim como 38 novas espécies.

Quando comecei a isolar e a identificar leveduras e a descrever novas taxa, as técnicas eram baratas não necessitando de nada mais exótico do que peptona, agar, glucose, galactose, maltose, lactose, rafinose, ureia e alguns sais minerais. Mas logo a seguir, o cenário modificou-se radicalmente através da introdução por Lynferd e Wickerham de cerca de 50 testes bioquímicos para a caracterização das leveduras e descrição rotineira de espécies novas. Isto significava para nós ou largar o trabalho de taxonomia das leveduras ou tentar arranjar dinheiro para montar as novas técnicas e comprar os produtos químicos necessários. Nessa altura fui incumbido por instâncias governamentais para treinar dois jovens veterinários, Lídia do Carmo Sousa e Rui Castelo Branco, que foram co-autores de vários dos meus trabalhos subsequentes de micologia. As condições que propus foram satisfeitas: material de vidro e produtos químicos suficientes para a identificação de 2000 estirpes de leveduras.

Embarcámos assim na taxonomia de leveduras, isolando um grande número de leveduras de ambientes naturais, identificando-as e descrevendo novas taxa, sempre que fosse o caso. Os resultados pareceram ter sido satisfatórios a nível internacional, uma vez que fui convidado para preparar monografias de vários géneros para a segunda edição da “bíblia” das leveduras de Lodder.

A natureza dos ambientes naturais donde essas leveduras foram isoladas teve consequências próprias. Devido à minha experiência prévia em micologia médica e veterinária, deu-se inicialmente preferência ao homem e a outros animais como fontes de leveduras, e publicámos um grande número de artigos sobre leveduras e outros fungos associados com bovinos, produtos lácteos, o homem, cavalos, carneiros, cabras, porcos, animais selvagens africanos, gaivotas e com outras fontes. Foi, para isso, necessário desenvolver várias técnicas para a identificação de leveduras com interesse médico e outras.

Os trabalhos com leveduras associadas com o homem e com outros animais conduziram a convites da Academia das Ciências de Nova Iorque e do VIII International Congress of Microbiology no Canadá, como orador convidado. Estes convites, além do seu interesse científico, significaram viagens pagas aos Estados Unidos e ao Canadá em 1959 e 1962. Com mais algum dinheiro da Fundação Gulbenkian, as viagens foram aproveitadas para estadas mais prolongadas com Claude ZoBell no Scripps Institution of Oceanography em La Jolla, Califórnia, com Samuel Meyers no Institute of Marine Science em Miami, Flórida, e na Biological Station da University of Michigan, em Pellston, Michigan. Lá tomei contacto com variadas técnicas de oceanografia biológica e limnologia. Isto conduziu a estudos intensivos e extensivos de leveduras vivendo em variados ambientes aquáticos doces, marinhos e de estuários, tais como o Oceano Pacífico ao largo da Califórnia, o Oceano Atlântico ao largo da Flórida e de Portugal, o Estreito de Torres, vários estuários portugueses e o Lago de Douglas no Michigan. Como o campo de leveduras marinhas era novidade na altura, o interesse internacional nos meus resultados foi suficientemente grande para me convidarem a participar em dois simpósios e escrever um artigo de revisão. Voltando a este trabalho marinho, aquilo de que gostei mais foi do isolamento e caracterização de duas espécies novas do género *Metschnikowia*, patogénicas para *Daphnia*. Leveduras deste género tinham sido observadas por Metschnikoff no século XIX, como parasitas da pulguinha de água, tendo-lhe possibilitado a descrição da fagocitose. Contudo, antes do isolamento que fiz destas leveduras, a partir de peixes e de algas do Pacífico, elas nunca tinham sido isoladas em cultura pura.

Em 1962 eu tinha-me, de certo modo, estabelecido como especialista internacional em três campos inter-relacionados: Taxonomia de leveduras, Micologia Médica e Veterinária, e Microbiologia Marinha.

Na sua essência, o trabalho tinha consistido no isolamento e identificação de leveduras e de organismos semelhantes a leveduras, desenvolvendo a metodologia para melhorar os processos respectivos, descrevendo novas taxa, obtendo dados ecológicos das relações entre leveduras e animais de sangue quente, assim como da distribuição de leveduras em ambientes marinhos.

Entretanto, a Fundação Gulbenkian tinha começado a financiar as minhas actividades científicas e tinha-me encarregado de preparar os planos dum pequeno, mas bem equipado e bem financiado Laboratório de Microbiologia, como parte integrante dum projecto mais vasto, o Instituto Gulbenkian de Ciência. Senti que o tempo estava maduro para tentar o salto para uma área de investigação um pouco mais sofisticada.

A minha exposição à microbiologia marinha tinha acordado em mim o interesse na dinâmica do crescimento microbiano em sistemas abertos com meios diluídos, como o oceano. O dinheiro da Gulbenkian permitiu-me comprar equipamento básico e, acima de tudo, adquirir jornais e livros. Nessa altura, tínhamos formado um pequeno grupo de trabalho e entrámos num período de estudo muito intensivo sobre técnicas básicas e teoria básica relativas a projectos que eu tinha, mais ou menos vagamente, em mente.

Aprendemos os princípios da técnica de cultura contínua, enzimologia básica, manometria, etc., de modo a iniciarmos os projectos de investigação. No decurso destes estudos, descobri que não tinha razão para ter medo de equações, como tinha tido no passado, e até gostei de brincar com elas e de escrever as minhas próprias equações para traduzir modelos ou interpretar resultados experimentais.

O trabalho desenvolvido com o quimiostato e com algumas enzimas microbianas forçou-me a entrar um pouco na cinética química, enzimática e microbiana, e o interesse posterior em energética microbiana fez-me sentir a necessidade de tentar agarrar os princípios da termodinâmica química. Esta última foi uma experiência muito interessante. Muitas vezes tentei e outras tantas desisti, até que dei com uma revisão crítica, na revista Science, dum livro elementar chamado "The second law", escrito por Henry Bent, agora na Universidade de North Carolina. Bent foi classificado pelo Journal of Chemical Education, como o melhor professor de Termodinâmica Química do mundo. Comprou-se o livro e consegui, finalmente, penetrar no mistério.

Posteriormente, convidei o Professor Bent para vir ao nosso Instituto, onde ele deu cursos altamente bem sucedidos em Termodinâmica. Estou agora convencido de que a termodinâmica não é um assunto difícil, que se resolve facilmente com uma metodologia de ensino apropriada, como acontece com muitas áreas da matemática.

O trabalho experimental desenvolveu-se dentro das linhas seguintes:

- 1ª. Cinética do crescimento e da morte de populações a temperaturas altas
- 2ª. Cinética e termodinâmica do crescimento limitado por um nutriente
- 3ª. Enzimologia microbiana

Mais recentemente, eu e os meus colaboradores temos desenvolvido esforço, para utilizar a nossa experiência com as leveduras, as enzimas, a cinética e a energética do crescimento microbiano, em iniciar projectos de investigação de natureza mais aplicada, e estamos agora a explorar, numa base preliminar, as possibilidades seguintes:

1. O quimiostato com retro-alimentação, como sistema modelar de tratamento de efluentes
2. Celulases de organismos termófilos
3. Cinética e energética do crescimento de leveduras amilolíticas

Bem, isto é simplesmente um texto que escrevi para um professor britânico que queria saber como começou o nosso laboratório. É um relato muito parcial que dá ênfase, sobretudo, àquilo que se passou antes da criação do Laboratório de Microbiologia em 65-66 e depois aquando da reestruturação de 74-75, em que o nome mudou para Grupo de Microbiologia. Claro que, nestes anos em que estamos a trabalhar em Oeiras, no laboratório onde trabalhamos essencialmente nas áreas que eu indiquei há pouco, ou seja, a cinética do crescimento e da morte de populações microbianas a temperaturas altas, a cinética e a termodinâmica de crescimento microbiano limitado por um nutriente, e a enzimologia microbiana, há uma riqueza de pormenores importantes e, por vezes, até divertidos que podíamos mencionar. O meu entrevistador esteve presente muitas vezes em muitas destas ocasiões.

Depois do golpe de estado de 25 de Abril de 1974 em que neste país, duma maneira geral, as pessoas sofreram uma alteração na sua consciência, também no nosso laboratório, no nosso grupo, no que respeita à actividade científica tivemos uma certa modificação ou, pelo menos, levantaram-se certos problemas, certas perguntas, certas preocupações sobre a utilidade social da nossa actividade. E houve, de facto, uma preocupação de ver se não seria possível ligar, mais claramente, a nossa actividade científica às necessidades previsíveis do país. Esta problemática foi levantada por membros do grupo, nomeadamente pelos mais novos, e eu acolhi isso com muito interesse, e tive sobretudo a preocupação de tentar ir ao encontro desses desejos sem perder a capacidade profissional, que tinha sido adquirida através dum esforço muito grande, durante muitos anos. De modo que a preocupação foi a de encontrar temas de trabalho que tivessem uma aplicação mais directa no que respeita às necessidades previsíveis do país e em que seriam utilizados as técnicas, os conhecimentos, a perícia adquiridos ao longo desses anos. E, depois de muita discussão, finalmente decidiu-se dar atenção e formular projectos de investigação que visassem a obtenção de proteínas microbianas, e doutros produtos microbianos considerados interessantes, a partir de matérias primas renováveis e abundantes, como são as matérias agrícolas e florestais que contêm amido e que contêm celulose. De modo que neste momento, encontra-se já em estruturação ou, digamos, já estão a trabalhar vários subgrupos do grupo da Microbiologia na Bioconversão, com a utilização de microrganismos ou enzimas microbianas da celulose e do amido. O que me parece muito importante é que, na nossa opção no sentido duma investigação mais aplicada, temos a preocupação fundamental de continuar a tratar destes assuntos tal e qual como na opção da investigação fundamental. De modo que não queremos, de maneira nenhuma, fazer uma investigação aplicada superficial, mas no fundo o que nós fazemos continua a ser investigação fundamental, simplesmente a área em que se faz essa investigação fundamental tem uma perspectiva de aplicação a curto ou a médio prazo.

Também, um outro aspecto da nossa evolução, ao longo destes anos, tem sido a utilização da nossa experiência científica, que se foi enriquecendo ao longo dos anos, no ensino nas mesmas áreas. E, nomeadamente o antigo Laboratório de Microbiologia, agora Grupo de Microbiologia tem tido uma actividade muito intensa na organização dos chamados Estudos Avançados de Oeiras, um programa de cursos intensivos que tem estado a funcionar desde 1969. Todos os anos se oferecem entre 5 e 8 cursos monográficos de duração de cerca de 4 semanas intensivas cada, em que cientistas nacionais e estrangeiros ensinam a um grupo relativamente pequeno de alunos seleccionados, 15 a 25, áreas modernas da Biologia. E também aqui, além do nosso grupo ter oferecido a parte mais importante da infra-estrutura do ensino, organizámos nós vários cursos nesses programas, em que tivemos a responsabilidade didáctica desses cursos. Além disso, o nosso laboratório, o nosso grupo de microbiologia, tem procurado contactos com a universidade, temos proporcionado ensino especializado na Faculdade de Farmácia do Porto para alunos da cadeira de Bioquímica, e mais tarde assumimos a responsabilidade pelas cadeiras de opção de Microbiologia e de Fisiologia Microbiana da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. E também temos ensinado Microbiologia a cursos de especialização da Universidade Nova de Lisboa, nomeadamente na área da engenharia sanitária. Este ensino tem sido um esforço colectivo do nosso grupo, em que houve participação de muitos elementos do grupo no ensino teórico e, sobretudo, no ensino prático. Prevê-se que no futuro vá continuar esta dupla actividade de investigação e de ensino nas áreas em que se desenvolve a nossa investigação.

