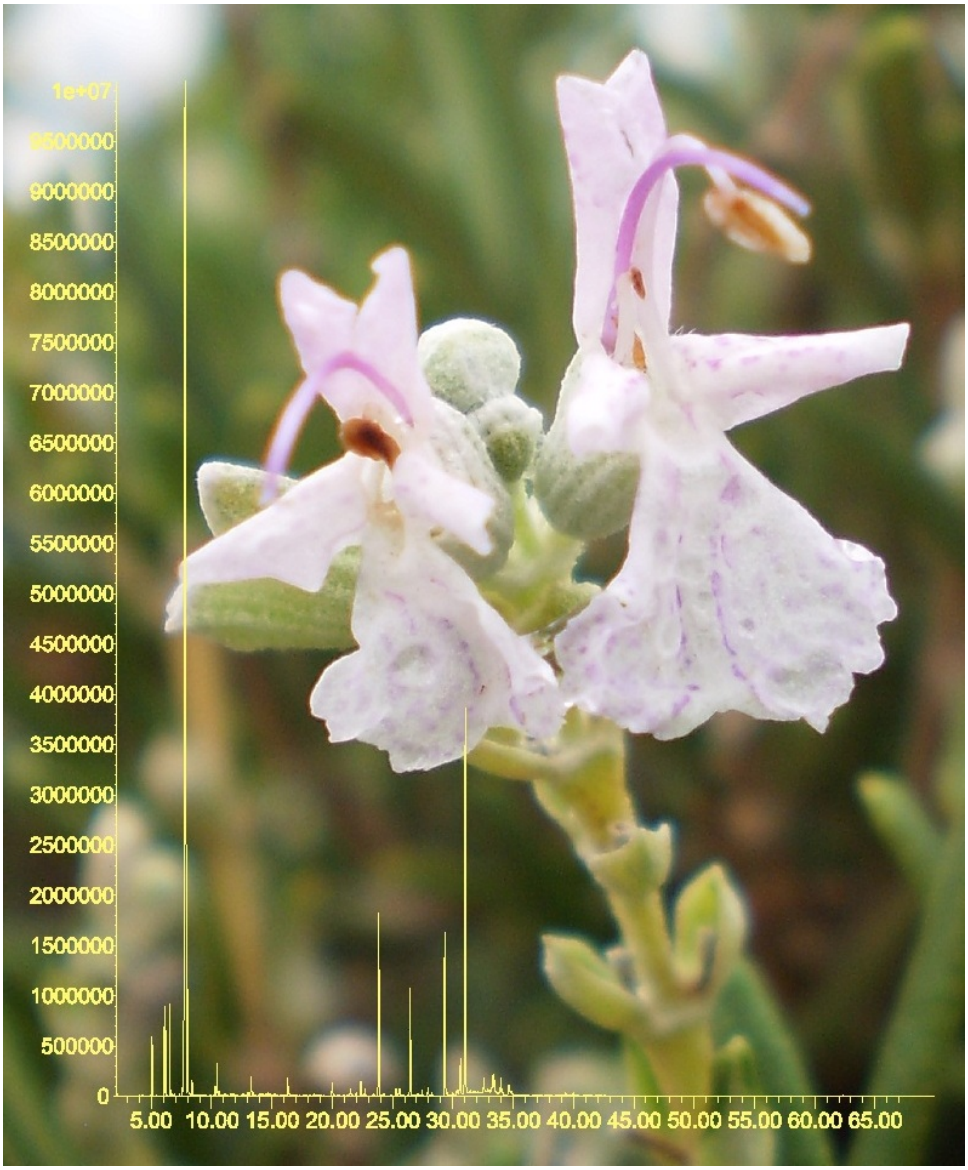
Documentos

ISSN 0102-0110
Julho, 2010

315

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Caracterização Química de Metabólitos Secundários em Germoplasma Vegetal

Foto: Dijalma Barbosa da Silva



Embrapa

ISSN 0102-0110
Julho, 2010

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

Documentos 315

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Caracterização Química de Metabólitos Secundários em Germoplasma Vegetal

Rosa de Belem das Neves Alves
Tânia Silveira Agostini Costa
Dijalma Barbosa da Silva
Roberto Fontes Vieira

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Brasília, DF
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Endereço: Parque Estação Biológica - PqEB – Av. W5 Norte (final)
Caixa Postal: 02372 - Brasília, DF - Brasil – CEP: 70770-917
Fone: (61) 3448-4700
Fax: (61) 3340-3624
Home Page: http://www.cenargen.embrapa.br
E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações
Presidente: *Lucio Brunale*
Secretária-Executiva: *Ligia Sardinha Fortes*
Membros: *Diva Maria de Alencar Dusi*
Jonny Everson Scherwinski Pereira
José Roberto de Alencar Moreira
Regina Maria Dechechi G. Carneiro
Samuel Rezende Paiva
Suplentes: João Batista Tavares da Silva
Margot Alves Nunes Dode

Revisor técnico: Alessandra Pereira Fávero
Supervisor editorial: Lígia Sardinha Fortes
Revisor de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães
Normalização bibliográfica*:* Lígia Sardinha Fortes
Editoração eletrônica: José Cesamildo Cruz Magalhães
Foto da capa: Dijalma Barbosa da Silva e Raul César Pedroso da Silva

1ª edição (*on line*)

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: Caracterização química de metabólitos secundários em germoplasma vegetal. / Rosa de Belem das Neves Alves, Tânia Silveira Agostini Costa, Dijalma Barbosa da Silva e Roberto Fontes Vieira. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.
12 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 315)

Revisão técnica: Alessandra Pereira Fávero.

1. Recursos Genéticos Vegetal – Conservação. 2. Caracterização química 3.Metabólitos secundários. I.Alves, Rosa de Belem das Neves. II. Agostini Costa, Tânia Silveira. III. Silva, Dijalma Barbosa da. IV. Vieira, Roberto Fontes. V. Série.
581.15 - CDD

© Embrapa 2010

Autores

Rosa de Belem das Neves Alves
Doutora em Agronomia (Horticultura), analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
rbelem@cenargen.embrapa.br

Tânia Silveira Agostini Costa
Doutora em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
tania@cenargen.embrapa.br

Dijalma Barbosa da Silva
M.Sc. em Agronomia (Fitotecnia), pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
dijalma@cenargen.embrapa.br

Roberto Fontes Vieira
Ph.D. em Horticultura, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
rfvieira@cenargen.embrapa.br

Apresentação

Desde o início da década de 1970, há uma crescente conscientização mundial sobre a necessidade de preservação dos recursos genéticos, que são essenciais para o atendimento das demandas de variabilidade genética dos programas de melhoramento, principalmente aqueles voltados para alimentação.

No Brasil, esta necessidade é especialmente importante, uma vez que a maioria dos cultivos que compõem a base alimentar do país é de origem exótica. Observa-se, por exemplo, que cerca de 95% dos acessos de cereais conservados em coleções do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA) são de espécies exóticas. Portanto, a manutenção e o enriquecimento contínuo da variabilidade genética dessas coleções são prioritários e estratégicos, considerando, ainda, as atuais restrições internacionais ao intercâmbio de germoplasma.

Na década de 1970, a *Food and Agriculture Organization* (FAO), órgão das Nações Unidas, estimulou o estabelecimento de uma rede mundial de Centros para a conservação de recursos genéticos situados em regiões consideradas de alta variabilidade genética. Em 1974, o *Consultative Group for International Agricultural Research* (CGIAR) criou o *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR), hoje transformado no *Bioversity International*. No mesmo ano, a Embrapa reconheceu a importância estratégica dos recursos genéticos com a criação do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN), que mais recentemente adotou a assinatura-síntese Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

A criação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a consolidação do SNPA estabeleceram ambiente propício para a formatação da Rede Nacional de Recursos Genéticos. A partir de então, paulatinamente, coleções de germoplasma foram estruturadas em diferentes Unidades Descentralizadas, predominantemente na área vegetal.

Em 1993, por intermédio de deliberação da Diretoria Executiva, a Embrapa formalizou, como ferramenta de gestão das coleções, o Sistema de Curadorias de Germoplasma e definiu os papéis e as responsabilidades para os diversos atores envolvidos nesse Sistema, tais como: curadores de coleções de germoplasma, Chefes de Unidades Descentralizadas que abrigavam as coleções e a Supervisão de Curadorias. Os projetos em rede foram definidos como figuras programática e operacional, possibilitando o custeio de atividades de coleta, intercâmbio, quarentena, caracterização, avaliação, documentação, conservação e utilização de germoplasma, além da manutenção das coleções. De 1993 até a presente data, muitas coleções de germoplasma foram estabelecidas e, atualmente, o Sistema de Curadorias da Embrapa reúne 209 coleções, incluindo Bancos Ativos de Germoplasma Vegetal (BAGs), Núcleos de Conservação Animal, Coleções Biológicas de Micro-organismos e Coleções de Referência, as quais abrangem espécies nativas e exóticas. Nas

demais Instituições do SNPA, estima-se que são mantidos pelo menos outros 243 Bancos Ativos de Germoplasma Vegetal.

Como duplicata de segurança dos acessos mantidos nos BAGs, a Embrapa Cenargen abriga a Coleção de Base (COLBASE) de germoplasma vegetal, projetada para conservar sementes à temperatura de -20°C por longo período de tempo.

Como consequência desses 30 anos de atividades relacionadas ao manejo dos recursos genéticos, os curadores adquiriram uma bagagem de conhecimentos práticos na área, conhecimentos estes que foram, em parte, sistematizados e disponibilizados para a sociedade por intermédio da presente obra: "Manual de Curadores de Germoplasma".

Esperamos que esta publicação em série torne-se um guia para os curadores de germoplasma no Brasil e no exterior, e que contribua efetivamente para o aprimoramento da gestão dos recursos genéticos deste país.

Mauro Carneiro
Chefe Geral
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Sumário

Definição 08

Importância 08

Função 08

Aplicações práticas 09

Importância para o BAG 09

Informações adicionais 10

Quando e quanto coletar 10

Laboratórios da Embrapa e instituições com os quais os curadores de BAG podem entrar em contato para constituir parcerias na caracterização química 10

Técnicas e equipamentos mais utilizados para a realização da caracterização química 10

Métodos destrutivos e não destrutivos 10

Referências 12

Caracterização Química de Metabólitos Secundários em Germoplasma Vegetal

Rosa de Belem das Neves Alves
Tânia Silveira Agostini Costa
Dijalma Barbosa da Silva
Roberto Fontes Vieira

Definição

Os principais metabólitos secundários podem ser distribuídos em três grupos, de acordo com sua rota biossintética: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio. A variação na constituição química dos metabólitos secundários de plantas é influenciada, principalmente, por hereditariedade (composição genética), ontogenia (estágio de desenvolvimento da planta) e influência do ambiente. Os fatores bióticos e abióticos podem interferir consideravelmente no perfil químico dos acessos avaliados.

Importância

Os metabólitos secundários desempenham papel importante na vida do homem, pois estão associados a diversos usos em diferentes culturas, constituindo componente de interesse em plantas medicinais, aromáticas, corantes, condimentos, estimulantes e, mais recentemente, em alimentos funcionais (VIEIRA e AGOSTINI-COSTA, 2007).

Função

A determinação da diversidade química de metabólitos secundários de espécies conservadas em coleções e bancos de germoplasma possibilita a discriminação dos acessos quanto à presença e/ou concentração de compostos bioativos. Logo, permite a avaliação do potencial do germoplasma para novos cultivos e usos com valor agregado. É de grande importância para a qualidade da matéria-prima a ser produzida e, consequentemente, para o melhoramento genético. A caracterização química pode ser considerada como uma estratégia para intensificar o uso de recursos genéticos vegetais conservados (VIEIRA e AGOSTINI-COSTA, 2007).

Aplicações práticas

Muitas substâncias do metabolismo secundário, como as fitoalexinas, apresentam importância agronômica e são fisiologicamente ativas contra herbívoros ou patógenos. O estudo da síntese de fitoalexinas, especialmente em espécies nativas, abre enormes perspectivas para a descoberta de novos produtos naturais com atividade antimicrobiana e cujas estruturas podem servir como modelo para a síntese química de defensivos agrícolas naturais (BRAGA, 2003).

Vários terpenos têm interesse para a agricultura por apresentarem ação inseticida, como os piretroides, os limonoides e a azadiractina, que é uma substância presente no nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.).

Dentre os alcaloides, também estão incluídos metabólitos de importância nutricional e funcional, como a cafeína presente no café (*Coffea arabica* L.) e a teobromina obtida do cacau (*Theobroma cacao* L.). De utilização medicinal, existe, por exemplo, o alcaloide utilizado no tratamento do glaucoma – a pilocarpina –, extraída de espécies do gênero *Pilocarpus*.

A busca de metabólitos secundários com atividade biológica também pode levar à descoberta de fontes alternativas de drogas de uso corrente e a identificação de efeitos farmacológicos diferentes daqueles atribuídos atualmente a uma determinada droga (SKORUPA e VIEIRA, 2005).

Quanto ao aspecto tecnológico, muitos metabólitos secundários apresentam características que conferem sabor, aroma e cor aos produtos de interesse, como capsaicina e carotenoides em *Capsicum* (pimentas).

A caracterização química de metabólitos secundários permite, também, a rastreabilidade de substâncias bioativas em germoplasma, além de garantir melhor qualidade da matéria-prima utilizada em programas de fitoterapia e na indústria farmacêutica.

Importância para o BAG

O conhecimento da diversidade química contribui para o estudo da variabilidade populacional e sazonal de compostos secundários em espécies exóticas e nativas. Populações quimicamente distintas, dentro de uma mesma espécie e sem distinção morfológica, com ênfase nos metabólitos secundários majoritários, foram definidas como raças químicas ou quimiotipos (HAY e SVOBODA, 1993). Segundo Vieira (2002), a existência e o reconhecimento de quimiotipos são fundamentais, também, na coleta de espécies nativas para estudos agronômicos visando à avaliação de constituintes químicos e ao aumento da sua produção.

A caracterização química pode ser utilizada para separar os acessos conservados quanto à presença e/ou concentração de substâncias específicas e princípios ativos. Destina-se também a conhecer a variabilidade intrínseca ou entre acessos de uma mesma espécie (VALLS, 2007). Portanto, a conservação da diversidade química dos recursos genéticos vegetais poderá ser mais eficiente a partir do levantamento do seu perfil químico.

Realiza-se a caracterização química, preferencialmente, nos acessos de bancos e coleções de germoplasma. Dependendo do objetivo, podem ser amostradas populações *in situ* e

avaliado seu perfil químico. Neste caso, a amostragem é fundamental para uma coleta representativa da variabilidade química dos acessos.
Atualmente, o Laboratório de Química de Produtos Naturais (LPN) realiza caracterização no âmbito dos recursos genéticos vegetais, principalmente de plantas aromáticas, medicinais, fruteiras nativas, amendoim, fava e pimenta.

Informações adicionais

Quando e quanto coletar

O primeiro passo é pesquisar na literatura e descobrir quais as substâncias bioativas de interesse para a espécie a ser avaliada, a fim de definir os métodos adequados para a realização das análises. Uma vez conhecidos os compostos a serem analisados e em qual parte da planta eles predominam, procede-se à coleta, considerando a época e o local de colheita, assim como a definição da melhor maneira de processar e secar o material.

Laboratórios da Embrapa e instituições com os quais os curadores de BAG podem entrar em contato para constituir parcerias na caracterização química

A Embrapa dispõe de diversas Unidades que realizam avaliação química de metabólitos secundários. Entretanto, no que se refere à caracterização da variabilidade química e genética, pode-se especificar a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a Embrapa Agroindústria de Alimentos. Outras Unidades dispõem de profissionais, instrumentação e laboratórios para a execução dessas atividades, porém com objetivos distintos: Embrapa Agroindústria Tropical, Embrapa Hortaliças e Embrapa Cerrados; Embrapa Meio Ambiente; Embrapa Tecnologia de Alimentos; e Embrapa Acre.

Técnicas e equipamentos mais utilizados para a realização da caracterização química

As técnicas mais utilizadas são a cromatografia em fase gasosa, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a espectrofotometria. Existem diversos equipamentos e métodos de análises para cada grupo de metabólitos.

A maior dificuldade para se analisar materiais de coleção de germoplasma resulta do fato de existir um grande número de amostras e dos procedimentos de extração, que são, em geral, muito trabalhosos. Dessa forma, deve-se priorizar a adequação de métodos de rápida e fácil execução, em virtude do número de amostras existentes.

Métodos destrutivos e não destrutivos

A maioria dos métodos de análises químicas é destrutiva, o que pode acarretar a perda do material genético em estudo. Métodos não destrutivos e adequados à avaliação de amostras devem ser pesquisados e consolidados para essa finalidade.

Foto: Dijalma Barbosa da Silva

Figura 1. Laboratório de Química de Produtos Naturais (LPN) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Referências

BRAGA, M. R. **Fitoalexinas e a defesa das plantas.** Disponível em: < http://www.sbq.org.br/PN-NET/texto5/defesa.htm >. Acesso em: 16 jul. 2003.

HAY, R. K. M.; SVOBODA, K. P. Botany. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. **Volatile oil crops:** their biology, biochemistry and production. Essex: Longman, 1993. p. 73-92.

SKORUPA, L. A.; VIEIRA, R. F. Coleta de germoplasma de plantas medicinais. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 435-468.

VALLS, J. M. F. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 281-305.

VIEIRA, R. F. Conservação de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas Brasileiras: um desafio para o futuro. **Acta Horticulturae**, ISHS, v. 569, p. 61-68, 2002.

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização química de metabólitos secundários em germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 343-376.

Embrapa

Recursos Genéticos e Biotecnologia

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

BRASIL UM PAÍS DE TODOS GOVERNO FEDERAL