

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Conservação *ex situ* (Colbase – Sementes)

Foto: Solange C. Barrios Roveri José



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

Documentos 317

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Conservação *ex situ* (Colbase – Sementes)

Solange C. Barrios Roveri José

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: *Lígia 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: Solange C. Barrios Roveri José

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**

José, Solange C. Barrios Roveri.

Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: Conservação ex situ (Colbase – Sementes). / Solange C. Barrios Roveri José. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

12 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 317)

Revisão técnica: Alessandra Pereira Fávero.

1. Recursos Genéticos Vegetal – Conservação. 2. Conservação ex situ. I. Título. II. Série.

581.15 - CDD

© Embrapa 2010

Autores

Solange C. Barrios Roveri José

Ph.D. em Agronomia (Fitotecnia), pesquisadora da Embrapa Recursos
Genéticos e Biotecnologia

solangebr@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

| | |
|---|----|
| Introdução e definição | 08 |
| Procedimentos para envio de material à Colbase – Sementes | 09 |
| Etapas a serem cumpridas pelo curador do BAG | 09 |
| Etapas a serem cumpridas pelo curador de produto | 09 |
| Manejo do Banco de Sementes conservadas a longo prazo (Colbase – Sementes) | 09 |
| Procedimentos básicos para a incorporação dos acessos | 09 |
| Recebimento e registro dos acessos na Colbase | 09 |
| Processamento das amostras | 10 |
| Limpeza e contagem do número de sementes | 10 |
| Determinação da umidade e secagem das sementes | 10 |
| Determinação da viabilidade das sementes | 10 |
| Empacotamento e armazenamento | 11 |
| Monitoração | 11 |
| Referências | 12 |

Conservação *ex situ* (Colbase – Sementes)

Solange C. Barrios Roveri José

Introdução e definição

A principal forma de conservação praticada pelos bancos de germoplasma é a *ex situ*, que depende do tipo de germoplasma e do objetivo da conservação. Na conservação *ex situ*, que consiste na conservação das espécies fora do seu local de origem, são utilizadas as seguintes modalidades: coleção base, coleção ativa, coleção de trabalho, coleção de campo, coleção *in vitro*, coleção em criopreservação, coleção nuclear e banco genômico (VALOIS, 1998; MENDES e GOES, 1998).

A conservação *ex situ* pode ser realizada a curto, médio e longo prazo. Por se tratar de um método prático e econômico, o armazenamento na forma de sementes tem sido o preferido, sendo utilizado para as espécies que produzem sementes ortodoxas, ou seja, que toleram teores de água reduzidos e armazenamento a temperaturas baixas.

A conservação da variabilidade genética a curto e médio prazo é feita pelos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs), cujo acervo é denominado de coleção ativa, que visa atender imediatamente aos programas de melhoramento genético e de intercâmbio de germoplasma. Plantas são também mantidas em campo para multiplicação/regeneração e caracterização dos acessos armazenados (SILVA *et al.*, 2007).

Por sua vez, a coleção de base é uma coleção abrangente de acessos conservados a longo prazo. É vista como uma estratégia de segurança, devendo incluir em seu acervo a coleção ativa duplicada (VALOIS *et al.*, 1996). As sementes normalmente não são distribuídas diretamente aos usuários, mas sim para regenerar coleções ativas. O Banco de Base de Germoplasma Semente (Colbase – Sementes) localiza-se na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A seguir, será discutida, de forma resumida, a rotina desenvolvida no manejo da coleção de base.

Procedimentos para envio de material à Colbase – Sementes

Etapas a serem cumpridas pelo curador do BAG

- Comunicar ao curador de produto e ao curador da Colbase Sementes sobre a intenção de envio de material. Para evitar duplicatas na coleção, é importante solicitar relatório da respectiva coleção contida na Colbase. Deve-se atentar para os padrões requeridos para envio do material. A quantidade de sementes para espécies agrícolas deve estar entre 1.500 e 2.000 sementes. O potencial germinativo das sementes deve ser igual ou superior a 80% para as espécies agrícolas multiplicadas em BAG. Para algumas situações específicas e para espécies não agrícolas, esses padrões são variáveis.
- Preparar os acessos a serem enviados, preencher o Requerimento para Trânsito Interno de Material, anexando a listagem contendo os dados de passaporte dos acessos. Encaminhar o material para o Intercâmbio e a Quarentena de Germoplasma da Embrapa/Cenargen.

Etapas a serem cumpridas pelo curador de produto

- Acompanhar todo o processo, desde a chegada do material ao Intercâmbio até a sua incorporação à Colbase.
- Revisar a listagem com os dados dos acessos e completar com os respectivos BRA's.

Manejo do Banco de Sementes conservadas a longo prazo (Colbase – Sementes)

Procedimentos básicos para a incorporação dos acessos

- Recebimento/documentação do germoplasma semente.
- Controle de qualidade, que envolve atividades de limpeza do material, determinação do conteúdo de água nas sementes, secagem e determinação da viabilidade das sementes.
- Armazenamento, que se refere ao empacotamento das sementes e seu condicionamento em câmaras frias a -20°C.
- Após o armazenamento, são desenvolvidas atividades de monitoração das coleções, em que os curadores definem procedimentos adequados para o envio de materiais destinados à multiplicação e/ou regeneração. Toda a atividade de conservação é documentada, o que inclui atividades administrativas e de manejo.

Recebimento e registro dos acessos na Colbase

As sementes recebidas na Colbase, provenientes do Intercâmbio, serão registradas e incorporadas às coleções quando as informações associadas aos acessos estiverem corretas e validadas pelo curador de produto. Cada amostra recebe uma etiqueta com código de barras para a identificação do acesso durante o seu manejo no Banco. Para o

registro de cada amostra, são utilizados no sistema Sibrargen os módulos de Intercâmbio e Conservação.

Processamento das amostras

Limpeza e contagem do número de sementes

A limpeza das sementes deve ser realizada de forma manual ou com o auxílio de equipamentos apropriados. Deve-se evitar o desperdício e a seleção de material. Os equipamentos devem ser rigorosamente limpos, para não haver mistura de acessos. Lentes de aumento, peneiras e sopradores são frequentemente utilizados. A contagem é realizada manualmente ou com o auxílio de contadores eletrônicos.

Determinação da umidade e secagem das sementes

A umidade das sementes deve ser determinada antes do armazenamento, e os procedimentos para a determinação do conteúdo de água nas sementes podem ser obtidos na publicação “Regras para Análise de Sementes” (BRASIL, 2009). Em coleções de base, recomenda-se que a umidade das sementes esteja entre 3 e 7%. A temperatura e a umidade relativa do ar de secagem da câmara de secagem da coleção de base estão reguladas para $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e $15 \pm 3\%$, respectivamente. A definição da umidade relativa e da temperatura do ar de secagem é importante para a obtenção da umidade das sementes desejadas. Na Tabela 1, pode-se observar alguns exemplos de umidade apresentada pelas sementes quando atingem o equilíbrio com o ambiente de secagem.

Tabela 1 – Grau de umidade de sementes de feijão, soja e sorgo em equilíbrio com diferentes umidades relativas do ar, sob várias temperaturas.

| Espécie | Temperatura (°C) | Umidade relativa do ar (%) | | | | | |
|---------|---------------------|----------------------------|------|------|------|------|------|
| | | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 |
| Feijão | 20 | 8,5 | 9,9 | 11,3 | 12,8 | 14,5 | 16,6 |
| | 28 | 8,3 | 9,7 | 11,1 | 12,6 | 14,3 | 16,4 |
| | 36 | 8,2 | 9,6 | 11,0 | 11,5 | 14,2 | 16,3 |
| Soja | 20 | 7,2 | 8,0 | 9,1 | 10,7 | 13,1 | 15,4 |
| | 28 | 5,7 | 6,5 | 7,6 | 9,2 | 11,6 | 13,9 |
| | 36 | 4,2 | 5,0 | 6,1 | 7,7 | 10,1 | 12,4 |
| Sorgo | 20 | 9,6 | 10,8 | 12,0 | 13,0 | 15,1 | 17,4 |
| | 28 | 9,1 | 9,3 | 10,5 | 11,5 | 13,6 | 15,9 |
| | 36 | 6,6 | 7,8 | 9,0 | 10,0 | 12,1 | 14,4 |

Fonte: ASAE, 1980.

Determinação da viabilidade das sementes

A viabilidade das sementes deve ser determinada após o processamento, ou seja, antes e durante o armazenamento, a intervalos regulares, para o acompanhamento da qualidade dos acessos. Na Colbase, a viabilidade das sementes é determinada por meio do teste de germinação e teste de tetrazólio. Utiliza-se este último teste para algumas espécies que apresentam alto percentual de sementes duras/dormentes, como forma complementar.

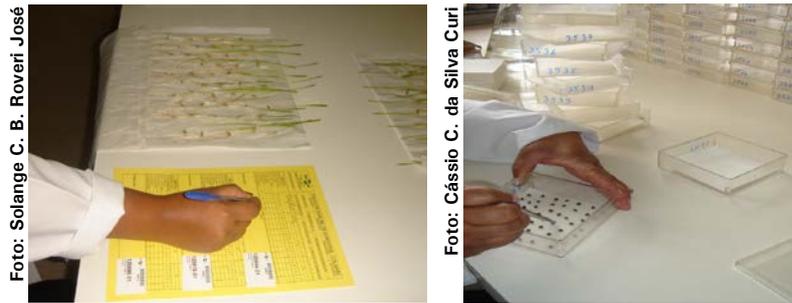


Figura 1 – Teste de germinação das sementes em rolo de papel (à esquerda), com detalhe da ficha de análise com etiqueta que contém o código de barras do acesso; teste de germinação em caixas acrílicas (à direita).

Empacotamento e armazenamento

As sementes dos acessos são acondicionadas em envelopes aluminizados, que são fechados hermeticamente. Cada acesso recebe uma etiqueta com código de barras, que identifica o acesso, e outra etiqueta que contém a sua localização na câmara fria. As instalações utilizadas para o armazenamento desses acessos são câmaras frias (pré-moldadas) com controle de temperatura (-18 a -20°C).



Figura 2. Câmaras para congelamento (-20°C) das sementes (à esquerda); detalhe do envelope aluminizado com as etiquetas de identificação e localização do acesso (à direita).

Monitoração

Consiste na verificação regular da viabilidade e da quantidade de sementes dos acessos de germoplasma armazenadas no Banco. Geralmente a cada 10 anos de armazenamento, faz-se esse trabalho de monitoração, dependendo da espécie e da qualidade inicial dos acessos. Todo o trabalho de monitoração é planejado com os curadores. É a oportunidade para realizar correções de dados e avaliar a necessidade do envio de material para multiplicação e/ou regeneração dos acessos.

Referências

ASAE. Moisture relationship of grains. **Agricultural engineers yearbook**. American Society of Agricultural Engineering, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

MENDES, R. A.; GOES, M. de. Cultura de tecidos na conservação de germoplasma vegetal. In: WORKSHOP PARA CURADORES DE BANCOS DE GERMOPLASMA DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS, 1997, Brasília, DF. Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil: **Anais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p 34-38.

SILVA, D. B. da.; WETZEL, M. M. V. da S.; SALOMÃO, A. N.; FAIAD, M. G. R. Conservação de Germoplasma Semente em Longo Prazo. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858p.

VALOIS, A. C. C. A biodiversidade e os recursos genéticos. In: **SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS E MELHORAMENTO DE PLANTAS PARA O NORDESTE BRASILEIRO**, 1998, Petrolina. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 3 p. (palestra)

VALOIS, A. C. C.; SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. **Glossário de recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1996. 62 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 22).



***Recursos Genéticos e
Biotecnologia***