

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Conservação em BAGs

Foto: Rosa Líia Barbieri



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos

320

*Embrapa Recursos Genéticos
e Biotecnologia
ISSN 0102-0110*

331

*Embrapa Clima Temperado
ISSN 1516-8840*

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Conservação em BAGs

Marcos Aparecido Gimenes
Rosa Lía Barbieri

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: Rosa Lía Barbieri

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 nº 9.610).

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

Gimenes, Marcos Aparecido.

Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: Conservação em BAGs. / Marcos Aparecido Gimenes e Rosa Lía Barbieri. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2010.

13 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 320; Documentos / Embrapa Clima Temperado, 331)

Revisão técnica: Alessandra Pereira Fávero.

1. Recursos Genéticos Vegetal – Conservação. 2. Banco Ativo de Germoplasma. I. Barbieri, Rosa Lía. II. Título. III. Embrapa Clima Temperado. III. Série.

581.15 – CDD

© Embrapa 2010

Autores

Marcos Aparecido Gimenes

Ph.D. em Genética, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

gimenes@cenargen.embrapa.br

Rosa Lía Barbieri

Ph.D. em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado

lia.barbieri@cpact.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
Como e o que conservar	08
Espécies de sementes ortodoxas	08
Espécies de sementes recalcitrantes	10
Conservação <i>in vitro</i>	10
Criopreservação	10
Conservação <i>in vivo</i>	11
Referências	13

Conservação em BAGs

Marcos Aparecido Gimenes
Rosa Lía Barbieri

Introdução e definição

A conservação de recursos genéticos em Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) pode ser realizada das seguintes maneiras: na forma de sementes, *in vitro*, criopreservação ou em campo. O principal critério para a seleção do método de conservação é o tipo de semente da espécie que se quer conservar, com relação ao seu comportamento quando submetida a condições de baixa umidade e baixa temperatura, isto é, se a semente é ortodoxa ou recalcitrante. Sementes ortodoxas são aquelas que se mantêm viáveis quando desidratadas (5 a 7% de água) e submetidas à baixa temperatura (-20° C); portanto, podendo ser armazenadas por longos períodos sem perda de viabilidade. As sementes que não podem ser armazenadas nas condições descritas logo acima são denominadas recalcitrantes.

A maior parte das sementes das espécies cultivadas já foi estudada e facilmente encontra-se na literatura se uma dada espécie possui semente ortodoxa ou não. Caso essa informação ainda não exista, estudos devem ser realizados, em que se deve reduzir a umidade (5 a 7% de água) das sementes da espécie que se quer conservar e checar o poder de germinação após a redução. Caso o poder de germinação seja alto, a espécie é ortodoxa. No caso de não ser, estudos adicionais devem ser realizados, pois o poder germinativo baixo ou nulo pode ser devido a diferentes fatores, como o fato da espécie ser recalcitrante ou a semente possuir algum tipo de dormência.

A conservação por meio de sementes, em alguns casos, tem como consequência a segregação na progênie e a não manutenção de determinados genótipos. Em alguns casos, isso não é desejável, e o germoplasma de algumas espécies, apesar de ortodoxas, não é mantido como sementes, como, por exemplo, o de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*).

Como e o que conservar

Espécies de sementes ortodoxas

Caso seja uma espécie de semente ortodoxa, a conservação ocorre pela manutenção de sementes em câmaras frias a -20° C, em condições de umidade controladas. Este tipo de conservação é o mais utilizado, pois permite a conservação por períodos longos (acima de 10 anos) de um número grande de genótipos em um pequeno espaço. Segundo a FAO,

90% dos seis milhões de acessos conservados *ex situ* no mundo são mantidos em bancos de sementes.

(<http://www.biodiversityinternational.org/scientific-information/themes/genebanks/overview.html>).

Foto: Rosa Líia Barbieri



Figura 1. *Capsicum chinense*, uma espécie de pimenta com sementes ortodoxas.

O monitoramento das coleções mantidas a baixas temperaturas é fundamental e deve ser realizado regularmente. A frequência do processo de monitoramento é determinada levando-se em consideração dados de literatura e dados de monitoramento realizados no próprio banco, pois a sua estrutura física e suas normas para inclusão de material na coleção terão consequências na maior ou menor manutenção da viabilidade de um dado lote de sementes. Trigo (*Triticum aestivum*), arroz (*Oryza sativa*), milho (*Zea mays*), melancia (*Citrullus lanatus*), ervilha (*Pisum sativum*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) são exemplos de sementes ortodoxas.

Espécies de sementes recalcitrantes

No caso de espécies recalcitrantes ou de espécies das quais se pretendem manter determinados genótipos, as estratégias de conservação são as seguintes: 1 – conservação *in vitro*; 2 – criopreservação; 3 – conservação *in vivo*.

Conservação *in vitro*

Consiste na manutenção de plantas em meio de cultura, sob condições estéreis, em frascos de vidro. Deve ser utilizada no caso de espécies de sementes recalcitrantes ou de espécies de propagação vegetativa, como, por exemplo, mandioca (*Manihot esculenta*) e batata (*Solanum tuberosum*).

A conservação *in vitro* não é sempre adequada para conservação a longo prazo, pois requer infraestrutura e equipamentos adequados e pessoal altamente treinado, o que eleva os custos desse tipo de conservação.

Mais informações sobre como enviar material para armazenamento na coleção *in vitro* podem ser obtidas no volume “Conservação *in vitro*”.

Criopreservação

É um processo no qual células ou tecidos vivos inteiros são preservados por resfriamento a temperaturas negativas (-196°C). A essa temperatura, quaisquer atividades biológicas, incluindo reações bioquímicas envolvidas com a morte celular, são efetivamente paralisadas. No geral, os materiais criopreservados são sementes e gemas.

Os fenômenos que podem causar danos às células durante a criopreservação ocorrem principalmente durante o estágio de congelamento (efeitos de soluções, formação de gelo extracelular, desidratação e formação de gelo intracelular). O uso de soluções crioprotetoras é fundamental, pois elas previnem que as células em preservação sejam danificadas durante os processos de resfriamento ou de descongelamento. Uma vez alcançado o estágio de congelamento, o material preservado fica relativamente seguro de danos extras.

Protocolos de criopreservação foram desenvolvidos para mais de 150 espécies diferentes de plantas, como, por exemplo, banana (*Musa spp.*), mandioca (*Manihot esculenta*), espécies do gênero *Solanum*, café (*Coffea arabica*), dendê (*Elaeis guineensis*) e chá verde (*Camellia sinensis*) (http://www.biodiversityinternational.org/scientific_information/themes/genebanks/overview.html).

Mais informações sobre o processo de criopreservação e informações a respeito de como enviar material para armazenamento na Coleção de Base podem ser obtidas no volume “Criopreservação”.

Conservação *in vivo*

A conservação de acessos em campo envolve a coleta e o plantio em uma área diferente daquela em condições *in situ*. O material para este tipo de conservação pode ser também obtido por meio de intercâmbio, principalmente no caso de espécies exóticas, como azeitona (*Olea europeia*), maçã (*Malus domestica*), pêra (*Pyrus communis*) e laranja (*Citrus sinensis*).

Os bancos mantidos em campo são utilizados para os seguintes tipos de espécies perenes:

1 - que produzem sementes recalcitrantes; 2 - que produzem pouca ou nenhuma semente; 3 - que são preferencialmente mantidas como clones; 4 - que possuem um ciclo de vida muito longo. São comumente utilizados para espécies como cacau (*Theobroma cacao*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), coco (*Cocos nucifera*), café (*Coffea arabica*), cana-de-açúcar, banana (*Musa paradisiaca*), tubérculos, frutas tropicais e temperadas; e cultivos vegetativamente propagados como cebola (*Allium cepa*), alho (*Allium sativum*) e gramíneas forrageiras

(<http://www.biodiversityinternational.org/scientific-information/themes/genebanks/overview.html>).

Foto: Rosa Lia Barbieri



Figura 2. Acessos de pessegueiros (*Prunus persica*), uma espécie frutífera temperada com sementes recalcitrantes, conservados em campo no Banco Ativo de Germoplasma de Prunoides da Embrapa Clima Temperado.

No estabelecimento de um banco em campo, devem ser levados em consideração os seguintes fatores: custos de manutenção do banco ao longo dos anos; possíveis perdas por dificuldade de adaptação de alguns genótipos às condições edafo-climáticas da região em que o banco está localizado; acidentes ocasionados por intempéries climáticas, como enchentes e secas; e acidentes de outra natureza, como roubos e incêndios criminosos. Pelo exposto, sempre que possível, a conservação em campo deve ser acompanhada por outro método de conservação que se aplique a espécies recalcitrantes ou de propagação vegetativa, isto é, a conservação *in vitro* ou a criopreservação.

Foto: Rosa Lía Barbieri



Figura 3. Acesso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), uma espécie medicinal nativa, conservado em campo no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa.

Referências

- BRAGA, M. R. **Fitoalexinas e a defesa das plantas**. Disponível em: <
<http://www.sbgq.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. (Ed.) **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. (Ed.). **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.



***Recursos Genéticos e
Biotecnologia***