

2

**UTILIZAÇÃO DE RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS NO
MELHORAMENTO**

LUCIANO LOURENÇO NASS

1. INTRODUÇÃO

Biodiversidade ou diversidade biológica refere-se a totalidade de genes, espécies e ecossistemas do mundo ou de uma região. Pode-se considerar que a biodiversidade é resultante de processos evolutivos que ocorrem na Terra. Existem estimativas relativas ao total de organismos vivos na Terra variando da ordem de 5 até 50 milhões ou mais, sendo que a mais aceita situa-se em torno de 10 milhões de espécies. Entretanto, até o presente, apenas 1,4 milhão foram devidamente classificadas.

A biodiversidade é usualmente considerada em três categorias distintas: diversidade genética, diversidade de espécies e diversidade de ecossistemas (McNeely *et al.*, 1990). A diversidade genética refere-se à variação dos genes dentro das espécies, ou seja, a soma total da informação genética presente nos genes de plantas, animais e microrganismos. A diversidade de espécies corresponde a variedade de espécies, isto é, de organismos vivos existentes na Terra. Por sua vez, a diversidade de ecossistemas está relacionada a existência de diferentes habitats, comunidades biológicas e processos ecológicos na biosfera.

As principais causas de perda da biodiversidade de acordo com o Instituto de Recursos Mundiais (1992) são: a alta taxa de crescimento demográfico e o aumento no consumo de recursos naturais; os sistemas econômicos e políticas que não atribuem o devido valor ao ambiente e a seus recursos; a desigualdade na distribuição de propriedade, na gestão e no fluxo de benefícios advindos do uso e da conservação de recursos biológicos; o desconhecimento dos ecossistemas naturais e seus inúmeros componentes; os sistemas jurídicos e institucionais que estimulam a exploração insustentável.

Por outro lado, conservação da biodiversidade compreende o manejo das interações humanas com as distintas categorias da biodiversidade, oferecendo benefícios à geração atual, porém mantendo seu potencial para atender às necessidades e aspirações das próximas gerações. Conseqüentemente, a conservação da biodiversidade não deve resumir-se a proteção da Natureza frente ao desenvolvimento, mas procurar satisfazer a demanda humana por recursos biológicos, e simultaneamente, garantir a sustentabilidade a longo prazo da enorme riqueza biótica do planeta. Assim, a conservação da biodiversidade deve manter o sistema de apoio à vida humana fornecido pela Natureza e os recursos vivos essenciais para o desenvolvimento (Instituto de Recursos Mundiais, 1992).

Por recursos biológicos entende-se aqueles componentes da biodiversidade de uso atual ou potencial para a humanidade. Os recursos genéticos envolvem a variabilidade de espécies de plantas, animais e microrganismos integrantes da biodiversidade, de interesse socioeconômico atual ou potencial para utilização em programas de melhoramento genético, biotecnologia e outras áreas afins. O termo recursos genéticos vegetais reduz o universo da biodiversidade para aquele relacionado com a flora. Também é possível fazer referência aos recursos genéticos de *Zea* ou aos

recursos genéticos de milho (*Zea mays* L.), sendo que nessa situação, indica-se a porção da diversidade genética relacionada ao gênero ou à espécie, respectivamente.

Estima-se que 300.000 espécies de plantas superiores foram descritas e que o Homem utilizou cerca de 3.000 na sua alimentação. Atualmente, são utilizadas aproximadamente 300, sendo que apenas 15 são responsáveis por 90% de toda a alimentação humana (Paterniani, 1988; Goodman, 1990). Essa situação reflete uma considerável redução da diversidade genética de espécies, o que representa uma erosão genética ao longo do tempo.

2. RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

A contribuição e o pioneirismo dos trabalhos conduzidos pelo botânico russo Nikolai Vavilov, no início do século XX, representam um marco inicial nos trabalhos com recursos genéticos vegetais (RGV). Vavilov foi o primeiro a compreender a importância e os benefícios potenciais a serem alcançados pela coleta de sementes de várias espécies ao redor do mundo e pela organização dessas amostras em forma de coleções (Lacy, 1995). Esses esforços iniciais foram essenciais para a estruturação das coleções de germoplasma em todo o mundo.

Os RGV apresentam valor inestimável, atual e futuro, independente do seu aproveitamento pelos pesquisadores por métodos convencionais de melhoramento genético ou pelas técnicas recentes de engenharia genética (Esquinas-Alcázar, 1993). Desta forma, os RGV podem ser considerados como um reservatório genético no qual podem ser encontradas as soluções para as diversas alterações ambientais pelas quais o mundo está passando, funcionando também como a matéria-prima para o desenvolvimento da agricultura.

Apesar da biodiversidade estar concentrada em países tropicais e subtropicais, nenhum país ou região pode ser considerado auto-suficiente em termos de RGV. Tomando-se o Brasil como exemplo, o qual é considerado um dos países de maior biodiversidade do mundo, pode-se notar que apenas algumas espécies são autóctones, entre elas: amendoim, abacaxi, cacau, caju, castanha-do-Brasil, guaraná, mandioca e seringueira. Percebe-se claramente que, para as demais culturas de importância econômica, e inclusive para as autóctones, a dependência de germoplasma de outras regiões do mundo é extremamente acentuada.

De acordo com Querol (1993), do ponto de vista etimológico, germoplasma é uma palavra de duas raízes: *germo*, do latim *germen*, que significa "princípio rudimentar de um novo ser orgânico"; e *plasma*, do grego *plasma*, que significa "a formação" e, em sentido geral, "a matéria não definida". Portanto, germoplasma significa a matéria onde se encontra um princípio que pode crescer e se desenvolver, sendo definido, segundo Allard (1960) como a soma total dos materiais hereditários de uma espécie. Desta forma, germoplasma é o material que constitui a base física da herança e que é transmitido de uma geração para outra.

A conotação do termo germoplasma é eminentemente técnica, não envolvendo sua importância econômica e política. Por sua vez, o termo recursos genéticos tem agregado um valor econômico presente nos genes, tal como ocorre com outros recursos: florestais, minerais, energéticos etc. (Querol, 1993). De acordo com Hoyt (1992) existem cinco categorias de germoplasma: a) parentes silvestres; b) populações locais

(*landraces*) ou cultivares primitivas; c) cultivares que foram substituídas; d) linhagens experimentais, mutações e outros produtos dos programas de melhoramento; e) cultivares modernas.

A partir da década de 50, verificou-se um maior interesse, em termos mundiais, com relação aos RGV. A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) merece destaque nesse processo de conscientização. A FAO promoveu três Conferências Técnicas Internacionais sobre RGV realizadas em 1967, 1973 e 1981, as quais são apresentadas nos trabalhos de Frankel & Bennett (1970), Frankel & Hawkes (1975) e Holden & Williams (1984), respectivamente.

Na década de 70, sob a coordenação do *Consultive Group on International Agriculture Research* (CGIAR), foram criados vários Centros Internacionais de Pesquisa Agrícola (IARC). Em 1974, foi estabelecido o *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR) com os objetivos de promover e coordenar os trabalhos com RGV ao nível mundial. A partir de 1992, o IBPGR deu origem ao *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI), cuja missão é promover a conservação e o uso dos RGV em benefício das gerações atual e futuras. Na realidade, o IPGRI não possui bancos de germoplasma ou laboratórios, sua atuação é no sentido de colaborar com diferentes parceiros interessados na conservação e uso de RGV (Rao & Riley, 1994). Entre os parceiros estão incluídos os Programas Nacionais de Recursos Genéticos, Universidades, Organizações Não-Governamentais (ONGs), entre outros.

A Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e o Desenvolvimento (UNCED), também conhecida como Encontro da Terra, realizada em 1992 no Rio de Janeiro, permitiu o desenvolvimento de um documento marcante com relação aos RGV, o qual foi denominado de Convenção da Diversidade Biológica. Em junho de 1996, na Conferência Internacional de Recursos Genéticos em Leipzig, na Alemanha, foi aprovado o Plano Global de Ação (PGA) para Recursos Genéticos para Agricultura e Alimentação. O PGA foi adotado e está sendo colocado em prática pelos países que compõem a Comissão de Recursos Genéticos da FAO, inclusive o Brasil (Guedes *et al.*, 1998).

O PGA enfatiza que somente através do uso dos RGV é que os benefícios sociais e econômicos da conservação dos RGV podem ser compreendidos (Cooper *et al.*, 1998). De acordo com a FAO (1996) o PGA tem como principais objetivos: a) assegurar a conservação dos recursos genéticos para a alimentação e agricultura com base na segurança alimentar; b) promover seu uso sustentável fomentando o desenvolvimento e reduzindo a fome e a pobreza; c) promover justa e equitativa partição dos benefícios obtidos pelo uso dos recursos genéticos; d) auxiliar na definição de prioridades de ação tanto de países como de instituições voltadas à conservação e uso dos recursos genéticos; e) fortalecer os programas nacionais, regionais e internacionais envolvidos com recursos genéticos.

O PGA consiste de 20 atividades prioritárias reunidas em quatro áreas principais: conservação *in situ*, conservação *ex situ*, utilização dos RGV e capacitação institucional. Essas atividades encontram-se resumidas na Tabela 1.

Diversas atividades estão relacionadas com RGV incluindo: introdução e intercâmbio de germoplasma, coleta, caracterização, avaliação, documentação, conservação e utilização. Na seqüência, alguns aspectos pertinentes a cada atividade

TABELA 1. Atividades prioritárias do Plano Global de Ação para Agricultura e Alimentação.

Conservação <i>in situ</i>
Levantamento e inventário dos RGV para agricultura e alimentação
Suporte ao manejo e melhoramento dos RGV para agricultura e alimentação <i>on-farm</i>
Auxiliar os agricultores a restaurar seus sistemas agrícolas em situações desastrosas
Promover a conservação <i>in situ</i> de parentais selvagens e espécies selvagens para a produção de alimentos
Conservação <i>ex situ</i>
Manter as coleções <i>ex situ</i> existentes
Regenerar os acessos <i>ex situ</i> ameaçados
Dar suporte ao planejamento e coleta de RGV para alimentação e agricultura
Expandir as atividades de conservação <i>ex situ</i>
Utilização de RGV
Expandir a caracterização, avaliação e o número de coleções nucleares para facilitar o uso dos RGV
Esforços para ampliar a base genética (<i>pre-breeding</i>)
Promover a agricultura sustentável pela diversificação dos cultivos e maior diversidade nas culturas
Promover o desenvolvimento e a comercialização de culturas e espécies subutilizadas
Dar suporte à produção e distribuição de sementes
Desenvolver novos mercados para as variedades locais e produtos "ricos em diversidade"
Capacitação institucional
Fortalecer programas nacionais de recursos genéticos
Promover uma rede de RGV para agricultura e alimentação
Gerar sistemas de informação compreensíveis de RGV para agricultura e alimentação
Monitorar as perdas de RGV
Expandir e melhorar a educação e os treinamentos
Promover a consciência pública do valor da conservação e uso dos RGV para agricultura e alimentação

Fonte: Cooper *et al.* (1998)

serão brevemente discutidos, uma vez que neste capítulo, ênfase será dada aos aspectos relativos à utilização de RGV no melhoramento. Informações adicionais sobre as fases de manejo do germoplasma são apresentadas em outro capítulo deste livro.

2.1 INTRODUÇÃO E INTERCÂMBIO DE GERMOPLASMA

Introdução é a transferência ordenada e sistemática de germoplasma para um novo local a fim de atender às necessidades dos programas de melhoramento genético e pesquisas correlatas (Giacometti, 1988a). Deve-se ressaltar que, qualquer procedimento relacionado à introdução de germoplasma necessariamente deve respeitar os regulamentos fitossanitários existentes no país. Em termos práticos diferentes tipos de introduções podem ser realizados, dependendo do interesse do pesquisador, tais como: a) espécie – introdução de uma espécie no país ou região; b) cultivar – introdução de uma população, variedade, híbrido, linhagem ou clone no país ou região; c) citoplasma – introdução de fontes de macho-esterilidade; d) gene – introdução de genes específicos para resistência a doenças e/ou pragas, ou outros genes potencialmente úteis para programas de melhoramento.

O intercâmbio de germoplasma consiste na aquisição recíproca de germoplasma. Entre os maiores fornecedores de germoplasma para o Brasil estão os Centros Internacionais de Pesquisa Agrícola (IARC), coordenados pelo CGIAR, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e as Universidades Americanas (Giacometti, 1988a). Embora os regulamentos fitossanitários possam parecer um entrave para o livre intercâmbio de germoplasma, eles se apresentam como mecanismos eficientes para impedir a entrada de pragas e patógenos inexistentes no país ou em uma região.

No Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) por meio da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é credenciada a proceder o intercâmbio de germoplasma e a adotar os procedimentos de quarentena. Detalhes da legislação brasileira sobre intercâmbio e quarentena de germoplasma vegetal e uma discussão sobre como funciona o fluxo de germoplasma a ser introduzido e/ou exportado são apresentados por Batista *et al.* (1998). Quanto à importação de germoplasma, as espécies vegetais são classificadas em duas categorias: a) de livre importação – neste caso é necessário apenas o Certificado Fitossanitário para seu intercâmbio; b) de importação restrita – onde informações adicionais no Certificado Fitossanitário são exigidas de acordo com portarias governamentais pertinentes ao material em questão.

A quarentena vegetal envolve um determinado período de incubação onde pode ocorrer o aparecimento e detecção de pragas e sintomas de doenças. Seu principal objetivo é prevenir a entrada de pragas e patógenos em áreas até então isentas desses organismos, constituindo-se em um mecanismo eficiente para proteger a agricultura e o ambiente da entrada de pragas e doenças inexistentes no país. A quarentena utiliza duas formas de controle: a exclusão e a erradicação. A primeira, refere-se à constatação da ausência da praga no material vegetal, enquanto a erradicação da praga no germoplasma importado é conseguida por tratamento térmico/químico ou de cultura de tecidos. Batista *et al.* (1998) salientaram que o importante é disponibilizar ao melhorista o germoplasma solicitado com o menor risco possível de introdução de novas pragas e doenças.

A série de publicações, sob coordenação da FAO-IPGRI, denominada *Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm* apresenta-se como um guia bastante útil quando há interesse no intercâmbio internacional de germoplasma.

2.2 COLETA

Pode-se considerar que a atividade de coleta de RGV iniciou-se com a própria agricultura. Heiser Jr. (1977) salientou que o homem primitivo certamente experimentou quase todos os recursos vegetais, tornando-se um perito na distinção dos que serviam para sua alimentação.

Os estudos conduzidos por Gregor Mendel, aliados com os conceitos estabelecidos por Charles Darwin, proporcionaram o aparecimento de um novo tipo de coletor, atento à natureza variável das espécies. De acordo com Lleras (1988), Nikolai Vavilov e seus colaboradores foram os primeiros a compreender a importância da diversidade em plantas cultivadas e seus parentes silvestres para o melhoramento genético.

Ford-Lloyd & Jackson (1986) apontaram quatro tipos básicos de locais de coleta: a) lavouras e roças; b) hortas e pomares caseiros; c) mercados e feiras; d) habitats silvestres. A coleta em lavouras e roças é bastante variável, haja vista a existência de diferentes sistemas agrícolas, principalmente nos países em desenvolvimento. Nesses locais, geralmente são encontradas cultivares melhoradas recentemente introduzidas. Hortas e pomares caseiros são locais importantes como fonte de coleta pela alta probabilidade de se capturar raças locais (*landraces*), valiosas pela sua capacidade de adaptação à ambientes específicos. Nos mercados e feiras, em curto espaço de tempo, vários materiais podem ser obtidos. Entretanto, as informações a respeito do material coletado podem não ser plenamente confiáveis. Com relação aos habitats silvestres a principal dificuldade reside na delimitação do tamanho das populações.

Lleras (1988) definiu quatro tipos de prioridades que devem ser consideradas na coleta de recursos genéticos: a) resgate de cultivares que estão sendo substituídas por outras de maior potencial; b) resgate de raças locais (*landraces*) pelo seu alto valor adaptativo às condições ambientais específicas; c) áreas sujeitas a mudanças severas em função de alterações drásticas no ambiente, como hidrelétricas, ferrovias, rodovias, mineração e áreas de expansão da fronteira agrícola; d) incorporação de novas alternativas ao sistema de pesquisa agropecuário para uso futuro pela humanidade. Aspectos teóricos e práticos relacionados com a coleta de RGV podem ser encontrados nos trabalhos de Guarino *et al.* (1995) e Walter & Cavalcanti (2001), sendo que o último tem suas atenções voltadas principalmente para coletas no Brasil.

Por ocasião da coleta de germoplasma faz-se necessário o registro da maior quantidade de informações disponíveis. Tais informações constituem os chamados dados de passaporte, os quais devem ser os mais completos possíveis. Cada instituição pode desenvolver seu próprio modelo de passaporte, entretanto, dados básicos como a exata localização geográfica e uma descrição pormenorizada do ambiente são imprescindíveis para trabalhos futuros, onde o potencial de utilização do acesso será avaliado. Em termos práticos, os dados de passaporte representam a identidade do acesso coletado.

Acesso é o termo utilizado para denominar toda amostra de germoplasma que representa a variação genética de uma população ou de um indivíduo propagado clonalmente (Vilela-Morales *et al.*, 1997). Nesse contexto, o acesso pode ser constituído por diferentes estruturas, entre elas: plantas, animais, sementes, estacas, bulbos, esporos, cepas, estirpes, pólen, sêmen, óvulos, embriões, tecidos e células, além da conservação do DNA e seus fragmentos. Um fator essencial a ser considerado na composição das amostras é a sua representatividade, para tanto deve-se atentar para os princípios relacionados ao tamanho efetivo populacional e a frequência alélica a ser considerada (Vencovsky, 1986; Vilela-Morales *et al.*, 1997).

Rao & Riley (1994) indicaram duas situações onde a biotecnologia pode auxiliar nas atividades de coleta reduzindo empecilhos de ordem prática e aumentando sua eficiência: a) fornecendo informações sobre a diversidade genética disponível em uma determinada área; b) desenvolvendo métodos *in vitro* para aplicação no campo, a fim de fornecer novas alternativas de coleta, especialmente para espécies de reprodução vegetativa e/ou espécies que apresentam sementes recalcitrantes.

2.3 CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO

Considerando que o germoplasma esteja disponível, seja por ações de coleta ou de introdução e intercâmbio, a seqüência dos trabalhos exige procedimentos no sentido da sua caracterização e avaliação. Nestas atividades merece destaque o papel do Curador de Germoplasma, que é o indivíduo responsável pela coordenação das informações sobre os acessos e toda a atividade pertinente ao seu produto.

No processo de caracterização e avaliação de qualquer acesso, Valls (1988) considerou a existência de cinco etapas subseqüentes e correlatas: a) correta identificação botânica; b) elaboração do cadastro de acessos por espécie; c) caracterização; d) avaliação preliminar; e) avaliação complementar. Essas etapas contribuem sobremaneira para um melhor conhecimento dos acessos, sendo possível a detecção de eventuais duplicações indesejáveis nas coleções.

O IPGRI tem publicado várias listagens de descritores para diversas culturas a fim de facilitar e uniformizar as atividades de caracterização e avaliação. Ambas as atividades resultam na tomada de dados de uma série de caracteres (descritores) que auxiliam o usuário a identificar os acessos com as características desejadas para sua utilização no melhoramento de plantas. Descritores podem ser definidos como os atributos ou características inerentes aos acessos de um banco de germoplasma, possibilitando a diferenciação entre acessos de uma mesma cultura (Howes, 1981). O uso de descritores na caracterização e também na avaliação de germoplasma, deve necessariamente resultar de um consenso entre curadores e melhoristas (Giacometti, 1988b); tomando-se o cuidado de não exagerar na quantidade de descritores a serem utilizados.

Querol (1993) definiu a caracterização como sendo a coleta de dados, sobretudo qualitativos, para descrever, e com isso diferenciar, acessos de uma mesma espécie. Nesse sentido, considerou também, que os principais dados de caracterização são características: da planta (altura, forma, hábito de crescimento e ramificações); da folha (forma, largura, comprimento, cor, tipo de borda e nervuras); da flor (forma, cor e tipo de cálice); do fruto (forma, cor, volume e número de sementes por fruto); da semente (tamanho, forma e cor); e das partes subterrâneas (tamanho, forma e cor).

O processo de caracterização permite a identificação de caracteres de alta herdabilidade, cuja expressão é pouco influenciada pelas condições ambientais; sendo geralmente conduzida pelos curadores de germoplasma. Diferentes níveis de caracterização são possíveis, entre eles: agrônômica, bioquímica e molecular. A situação ideal é que todos os níveis de caracterização sejam realizados, cabendo aos pesquisadores e curadores a decisão do nível de informação desejado, tomando-se por base a demanda existente pelos acessos das diferentes culturas, como também a disponibilidade de recursos financeiros.

A biotecnologia também tem auxiliado bastante nos trabalhos de caracterização podendo-se identificar quatro áreas importantes: a) identificação de genótipos, incluindo acessos duplicados; b) *fingerpint* dos genótipos; c) análise da diversidade genética nas coleções ou em condições naturais; d) estabelecimento de coleções nucleares (Dodds & Watanabe, 1990). Várias técnicas envolvendo marcadores têm sido empregadas no estudo dos RGV, sendo que algumas dessas aplicações são apresentadas na Tabela 2.

A avaliação dos acessos é conduzida por uma equipe multidisciplinar e envolve caracteres quantitativos, isto é, controlados por muitos genes e que são altamente influenciados pelas condições ambientais. As ações relacionadas à avaliação dos RGV podem ser divididas em avaliação preliminar e complementar. Segundo Smith & Duvick (1989) a avaliação preliminar inclui informações sobre os caracteres agrônômicos básicos como: ciclo, altura da planta, porcentagem de germinação e resistência a doenças. Tais informações são de grande importância e deveriam estar disponíveis para todos os acessos mantidos nos bancos de germoplasma. Entretanto, Peeters & Williams (1984) estimaram que mais de 90% dos acessos não possuíam dados de avaliação preliminar.

Aqueles acessos com melhor potencial devem ser submetidos a avaliação complementar, a qual necessariamente deve ser realizada por uma equipe multidisciplinar. Nessa etapa as informações são obtidas a partir de experimentos com repetições, sendo também interessante a utilização de vários ambientes.

TABELA 2. Características, usos e limitações das técnicas envolvendo marcadores genéticos aplicadas aos recursos genéticos vegetais.

Técnicas	Características	Usos	Limitações
Isoenzimas	Codominante	Estudos da estrutura populacional. Como complemento de outros marcadores dominantes.	Poucos locos disponíveis. Protocolos não universais.
Polimorfismo baseado em tamanho de fragmentos de restrição (RFLP)	Codominante	Caracterização de germoplasma. Mapeamento e seleção assistida por marcadores.	Exigência de bibliotecas de cDNA ou genômicas (sondas). Marcação radioativa. Dificuldade na análise da diversidade genética em larga escala.
Polimorfismo baseado em fragmentos amplificados (AFLP)	Dominante	Programas de <i>pre-breeding</i> . Estudo e avaliação da divergência genética (dendrogramas). Identificação de duplicatas (<i>fingerprinting</i> de cada material).	Pouca informação por loco. Marcação radioativa ou uso de sequenciadores automáticos.
DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD)	Dominante. Utiliza Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Método simples, de baixo custo e rápido. Não envolve radioatividade. Adequado para grandes amostras.	Programas de <i>pre-breeding</i> . Estudos de divergência genética (dendrogramas). Identificação de duplicatas. Mapeamento e seleção assistida por marcadores. Uso conjunto com outros marcadores.	Pouca informação por loco.
Número variável de repetições aleatórias (VNTRs). Micro e Minissatélites	Codominante. Marcadores altamente informativos.	Indicados para a caracterização de recursos genéticos. Detecção de duplicatas com altíssima precisão. Estudos da estrutura populacional. Seleção assistida por marcadores.	Desenvolvimento do marcador e obtenção dos pares de iniciadores (<i>primers</i>).
PCR de DNA citoplasmático (cloroplasto e mitocôndria), com posterior sequenciamento	Codominante. Não segregam (herança materna).	Caracterização detalhada de germoplasma. Detecção de mutações (duplicações, inversões, deleções e inserções). Filogenia molecular	Custo elevado.

Informações sobre qualidade de grão, tolerância aos estresses bióticos e abióticos e produtividade devem ser obtidas com o objetivo de estimular o uso dos RGV. Considerações práticas e estratégias para avaliação de acessos são encontradas em Williams (1989) e Frankel (1989).

2.4 DOCUMENTAÇÃO

Vilela-Morales (1988) enfatizou que as ações de documentação envolvem o processamento das informações de uma série de atividades relacionadas ao germoplasma, entre elas: a) enriquecimento da variabilidade genética (intercâmbio de germoplasma, coleta e melhoramento genético); b) cadastramento das coleções (base, ativa e nuclear); c) conservação das coleções (câmaras frias, *in vitro* e *in vivo*); d) caracterização e avaliação de germoplasma (uso de descritores qualitativos e quantitativos).

O manejo adequado dos dados é essencial em todas as atividades relacionadas com RGV. Para ser eficiente, o sistema utilizado necessariamente deve conter dados facilmente recuperáveis e compreensíveis por parte dos usuários.

O avanço no campo da informática tem auxiliado sobremaneira os trabalhos de documentação em RGV (Costa, 1999). Com o advento da internet estas ações ganharam nova dimensão, fruto da agilidade e eficiência com que a informação é documentada e disponibilizada. Países desenvolvidos e em desenvolvimento têm concentrado seus esforços na geração de sistemas de informação em RGV, pois é praticamente inviável a geração de um sistema universal, uma vez que as realidades e necessidades de cada país são muito diferentes. Esquinas-Alcázar (1993) ressaltou que um bom sistema de documentação é a chave para uma efetiva utilização dos acessos mantidos nos bancos de germoplasma.

2.5 CONSERVAÇÃO

Conservação é definida como o manejo pelo Homem da biosfera para que possa produzir o maior benefício sustentável às atuais gerações, mantendo seu potencial de satisfazer às necessidades e aspirações das gerações futuras. Nesse sentido, a conservação é positiva e compreende a preservação, manutenção, utilização sustentável, restauração e melhoria do ambiente natural (Instituto de Recursos Mundiais, 1992).

A estratégia de conservação depende da natureza do material, do objetivo e do alcance da conservação (Frankel, 1970). A natureza do material envolve a duração do ciclo total, modo de reprodução, tamanho dos indivíduos e se o material é domesticado ou não. Além disso, deve-se considerar também o tempo (curto, médio e longo prazo) e o local onde será realizada a conservação (Ford-Lloyd & Jackson, 1986).

Basicamente, existem duas estratégias de conservação denominadas *in situ* e *ex situ*. É importante enfatizar que essas estratégias não são excludentes, devendo ser consideradas como complementares. A *in situ* é a conservação da biodiversidade dentro do ecossistema, mantendo a dinâmica evolutiva do habitat original ou do ambiente natural. Por sua vez, a *ex situ* é a conservação da biodiversidade fora do ambiente original ou natural. O IBPGR (1991) definiu conservação *in situ* como a manutenção contínua de uma população na comunidade a qual ela pertence e dentro do ambiente ao qual ela está adaptada, enquanto que, conservação *ex situ*, consiste na manutenção de espécies em habitats diferentes daqueles aos quais elas estão adaptadas.

2.5.1 CONSERVAÇÃO IN SITU

Conservação *in situ* permite, teoricamente, preservar espécies cultivadas e silvestres, sem necessidade de grandes gastos, dependendo apenas de decisões políticas das autoridades (Querol, 1993).

Esta estratégia é mais indicada para espécies silvestres das plantas cultivadas, forrageiras, fruteiras e espécies florestais. Hoyt (1992) ressaltou que somente as espécies silvestres podem ser candidatas à conservação *in situ*, uma vez que somente elas vivem em comunidades naturais. A conservação *on farm* (na fazenda) é uma alternativa que viabiliza a conservação de espécies de plantas e animais dentro do seu habitat natural, ainda que estejam submetidas a práticas de manejo.

Querol (1993) salientou que a conservação *in situ* de espécies cultivadas anuais é dificultada pela necessidade de controle do meio onde se conserva o material e pelo perigo da introdução de novas espécies ou novas variedades. Além disso, considera que propor a conservação de raças locais sem melhorá-las significa obrigar o pequeno agricultor a manter um nível de produção baixo e evitar o aproveitamento das vantagens de alguns avanços da agricultura moderna.

2.5.2 CONSERVAÇÃO EX SITU

Estima-se que dos 300 milhões de dólares anuais necessários para sustentar a conservação *ex situ* dos recursos genéticos agrícolas, 43% são destinados aos programas nacionais de bancos de sementes, 6% para conservação nas fazendas, 6% para os bancos de genes em campo e centros de coletas *in vitro*, 10% para respaldar as atividades através da comunidade internacional, 17% para pesquisa, 4% para treinamento, 8% para a conscientização do público e 6% para construir novas instalações, sendo que os custos para conservação *in situ* não foram incluídos nestas estimativas (Instituto de Recursos Mundiais, 1992).

De maneira geral, a conservação *ex situ* é efetuada nas seguintes estruturas: coleção de base, coleção ativa, coleção de trabalho, coleção a campo, coleção nuclear, coleção *in vitro*, criopreservação e coleção genômica (Guedes *et al.*, 1998).

Quando uma espécie normalmente se propaga por sementes o armazenamento a longo prazo é o método preferido para sua conservação (Goedert, 1988). Sob condições apropriadas de armazenamento, as sementes de muitas espécies permanecem viáveis por centenas de anos (Harrington, 1970).

Para fins de armazenamento, as sementes são classificadas em três grupos distintos (Roberts, 1973; Ellis *et al.*, 1990).

- a) Ortodoxas: aquelas onde o teor de umidade pode ser reduzido entre 4% a 6% e suportam o armazenamento por longos períodos em temperaturas subzero, geralmente entre -18°C a -20°C;
- b) Intermediárias: aquelas que são colhidas da planta-mãe com umidade ainda alta, mas que podem ser submetidas à secagem até cerca de 10% de umidade sem sofrer perda de viabilidade;
- c) Recalcitrantes: aquelas que morrem rapidamente quando submetidas à redução do teor de umidade abaixo de determinados níveis críticos, os quais são variáveis entre as espécies.

A maioria das sementes utilizadas na agricultura apresenta comportamento ortodoxo (Roberts *et al.*, 1984), com isso a conservação a longo prazo é facilitada. Entretanto, mesmo em condições ideais de armazenamento, que envolvem redução do teor de umidade da semente e temperatura subzero, existe deterioração (Roberts & Ellis, 1984). Para as espécies intermediárias pode-se realizar um armazenamento a médio prazo, cerca de poucos anos. No outro extremo, estão as espécies recalcitrantes que não obedecem as regras aplicadas às sementes ortodoxas (Ford-Lloyd & Jackson, 1986), apresentando viabilidade reduzida, apenas poucos dias ou meses, quando submetidas à condição de umidade insuficiente.

Uma descrição sucinta dos diferentes tipos de coleções utilizadas na conservação *ex situ* de germoplasma é apresentada na Tabela 3.

TABELA 3. Descrição resumida dos tipos de coleções utilizados na conservação de germoplasma *ex situ*.

Tipo de Coleção	Características	Responsável
Coleção de Base (Colbase)	Destinada a conservar o germoplasma a longo prazo pela utilização de processos de refrigeração, com temperatura entre -18°C e -20°C. No caso de sementes, seu grau de umidade deve ser reduzido para o intervalo entre 4% a 6%.	Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Coleção Ativa (Colativa)	Conserva amostras de germoplasma a médio prazo, com temperatura acima de zero e abaixo de 15°C. A estrutura física que conserva a Colativa é denominada de Banco Ativo de Germoplasma (BAG);	Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)
Coleção Nuclear (Core Collection)	São coleções menores que têm por objetivo representar a variabilidade genética de uma espécie e seus parentes silvestres com o mínimo de repetitividade. Para tanto, sugere-se a utilização de 10% a 15% do total dos acessos disponíveis, que através de estratificação criteriosa, representam de 70% a 80% da variação genética da coleção. Nas coleções muito grandes, a coleção nuclear não deve exceder 3000 amostras.	Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)
Coleção de Trabalho	Destinada a conservação das amostras com as quais o melhorista ou outro pesquisador está trabalhando.	Melhoristas, Geneticistas e outros Pesquisadores
Coleção <i>in vivo</i> (a campo)	Destinada a conservar espécies intermediárias e recalcitrantes. Muito utilizada para as espécies que apresentam reprodução vegetativa. Suas principais limitações são a exposição aos fatores bióticos e abióticos e a área exigida para manter as coleções.	Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)
Coleção <i>in vitro</i>	Destinada a conservar espécies intermediárias e recalcitrantes, constituindo-se em uma excelente alternativa para as espécies conservadas <i>in vivo</i> (a campo). Oferece maior segurança e economia de espaço, porém, não elimina a necessidade de renovação periódica da coleção.	Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)
Coleção Genômica	Destinada a conservar coleção de fragmentos de DNA clonados, que incluem praticamente toda informação genética de uma determinada espécie.	Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)
Criopreservação	Conservação <i>in vitro</i> de germoplasma a longo prazo pela utilização de nitrogênio líquido em temperatura ultra-baixa (-196°C).	Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)

De acordo com Vilela-Morales *et al.* (1997) as amostras de germoplasma utilizadas nos procedimentos *ex situ* podem ser classificadas em duas categorias em relação a sua conservação a longo prazo:

a) Amostra Inicial – obtida através de procedimentos de coleta, intercâmbio de germoplasma ou de programas de melhoramento genético. Frequentemente, as amostras iniciais apresentam tamanho inadequado para permitir sua imediata incorporação ao sistema de armazenamento. Nesses casos, as amostras são submetidas a procedimentos de multiplicação inicial, devendo-se optar por aqueles que evitem ou diminuam perdas em variação genética, que se acentuadas, poderão provocar uma expressiva descaracterização da mesma em relação à população originalmente amostrada. Depois da multiplicação inicial, as amostras obtidas constituem a amostra base da coleção, com índice de regeneração zero (R_0) o que indica tratar-se da amostra inicial para a coleção.

b) Amostra Base – obtida através dos procedimentos de multiplicação inicial da amostra inicial ou diretamente dos procedimentos de coleta ou de intercâmbio de germoplasma. Seu tamanho deve ser adequado, para evitar ou diminuir a ocorrência de perdas de variação genética durante os futuros procedimentos de multiplicação ou regeneração. O sistema de conservação de germoplasma deverá definir o número de amostras necessárias para conservar cada acesso de germoplasma. Toda vez que a quantidade de amostras-base diminuir até um número mínimo, por exemplo duas, ou a viabilidade diminuir até níveis considerados críticos pelo sistema estabelecido, por exemplo 85% do poder germinativo inicial, uma amostra base deve ser submetida a procedimentos de regeneração; tomando-se sempre os cuidados necessários para evitar ou diminuir as perdas e/ou alterações da variação genética que provocam sua descaracterização. Ao final dos procedimentos de regeneração, as amostras obtidas deverão substituir as amostras remanescentes na coleção de germoplasma e o índice de regeneração deverá ser alterado somando-se o valor 1 ao índice apresentado pela amostra que foi regenerada. Como exemplo, uma amostra com uma regeneração terá índice R_1 ; caso ela seja submetida a outra regeneração, a nova amostra obtida terá índice R_2 .

Vilela-Morales (1999) ressaltou que, embora a teoria de amostragem seja clara, a situação mais comum é o recebimento de amostras fora do padrão de representatividade genética.

Faiad *et al.* (1998) relacionaram os procedimentos usualmente empregados para a conservação de germoplasma-semente a longo prazo, com destaque para a metodologia adotada pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Detalhes mais específicos sobre a conservação *ex situ* são apresentados em outro capítulo deste livro. Os procedimentos de regeneração e os vários aspectos relacionados à amostragem em ações de coleta e regeneração são discutidos por Vencovsky (1986), Hallauer & Miranda Filho (1988) e Vilela-Morales *et al.* (1997).

3. DISPONIBILIDADE DOS RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

O número total de acessos mantidos em coleções de germoplasma é superior a 2,5 milhões, sendo 1.200.000 de cereais, 369.000 de leguminosas, 215.000 de forrageiras, 137.000 de hortaliças e 74.000 de tubérculos (Plucknett *et al.*, 1987). Um resumo destas estimativas é apresentado na Tabela 4. Existem estimativas recentes que apontam para números da ordem de 6,5 milhões de acessos ao nível mundial.

Todavia, esse valor parece superestimado, uma vez que o número de duplicatas deve estar inflacionando esse dado. Certamente, as culturas de maior importância econômica estão melhor representadas nas coleções de germoplasma (Lyman, 1984). Isto também é reflexo do maior esforço dos programas de pesquisa para essas culturas.

Dois aspectos devem ser considerados com relação a duplicatas de coleções. Primeiro, elas podem ser utilizadas como meio de proteção contra perdas ocasionadas por desastres naturais, erros humanos ou questões políticas. Segundo, a duplicação indiscriminada de acessos ou de coleções inteiras em vários locais pode ser dispendiosa e desnecessária.

TABELA 4. Estimativas do número de acessos nos bancos de germoplasma no mundo.

Cultura	Número de Acessos	Número de Amostras Distintas	Porcentagem de cobertura	
			Raças locais (Landraces)	Espécies selvagens
Cereais				
Trigo	410.000	125.000	95	60
Cevada	280.000	55.000	85	20
Arroz	215.000	90.000	75	10
Milho	100.000	50.000	95	15
Sorgo	95.000	30.000	80	10
Aveia	37.000	15.000	90	50
Centeio	18.000	8.000	80	30
Leguminosas				
Feijão	105.000	40.000	50	10
Milho	100.000	18.000	60	30
Amendoim	34.000	11.000	70	50
Grão-de-bico	25.000	13.500	80	10
Guandu	22.000	11.000	85	10
Ervilha	20.500	6.500	70	10
Caupi	20.000	12.000	75	1
Lentilha	13.500	5.500	70	10
Feijão-fava	10.000	5.000	75	15
Tubérculos				
Batata	42.000	30.000	95	40
Mandioca	14.000	6.000	35	5
Inhame	10.000	5.000	40	5
Batata-doce	8.000	5.000	50	1
Hortaliças				
Tomate	32.000	10.000	90	70
Cucurbitáceas	30.000	15.000	50	30
Crucíferas	30.000	15.000	60	25
<i>Capsicum</i>	23.000	10.000	80	40
<i>Allium</i>	10.500	5.000	70	20
Berinjela	3.500	2.000	50	30
Culturas Industriais				
Algodão	30.000	8.000	75	20
Caná-de-açúcar	23.000	8.000	70	5
Cacau	5.000	1.500	--	--
Beterraba	5.000	3.000	50	10
FORAGEIRAS				
Leguminosas	130.000	--	--	--
Gramíneas	85.000	--	--	--

Adaptada de Plucknett *et al.* (1987)

A partir de 1975 houve um incremento significativo no número de bancos de germoplasma ao nível mundial (Plucknett *et al.*, 1987), principalmente nos países em desenvolvimento. Esse esforço obviamente conduziu a um aumento substancial na quantidade de acessos incorporados ao sistema. Embora a quantidade tenha crescido consideravelmente, muitas amostras mantidas nesses bancos foram perdidas devido às condições inadequadas para sua conservação.

A erosão dos recursos genéticos é conseqüência da exploração abusiva dos recursos naturais do planeta pelo Homem, o qual tem quebrado o balanço de muitos sistemas agroecológicos e ocasionado um aumento na degradação da biosfera. Entretanto, salvaguardar os recursos genéticos pela sua proteção *in situ* ou *ex situ* é fundamental para o desenvolvimento sustentável da agricultura, para a segurança alimentar e para a estabilidade ambiental (Esquinas-Alcázar, 1993).

4. RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS E MELHORAMENTO

As pesquisas com RGV envolvem uma série de atividades essenciais, as quais necessitam de um considerável suporte financeiro e, principalmente, exigem continuidade. De maneira geral a estrutura dos bancos de germoplasma compreende as seguintes atividades: introdução e intercâmbio de germoplasma, coleta, caracterização, avaliação, documentação e conservação. A fim de que os objetivos básicos dos bancos de germoplasma sejam alcançados, tais como a manutenção da variabilidade genética e a utilização dos acessos, é de fundamental importância que haja uma sincronia perfeita entre as diferentes atividades (Nass, 1999). Por outro lado, os melhoristas de plantas conduzem seus programas em função da variabilidade genética disponível para atender ao(s) objetivo(s) do melhoramento. Tanto no setor público quanto no privado, os melhoristas estão empenhados no desenvolvimento de materiais que preencham as necessidades atuais e futuras do mercado no menor espaço de tempo e com o menor custo possível.

A maioria dos trabalhos de melhoramento envolve cruzamentos entre materiais elites (Goodman, 1990), uma vez que estas populações apresentam elevado potencial genético para os caracteres de interesse (Duvick, 1984; Paterniani, 1987; Troyer, 1990; Nass *et al.*, 1993). Desta forma, os genes potencialmente úteis mantidos nas coleções somente serão utilizados caso sejam incorporados nos materiais considerados elite.

A vulnerabilidade genética deve ser uma preocupação constante no melhoramento de qualquer espécie. A experiência desastrosa verificada na cultura do milho nos Estados Unidos em 1970, devido à epidemia de *Helminthosporium maydis*, é um exemplo concreto de como materiais muito uniformes podem ser dizimados em curto espaço de tempo.

No melhoramento de milho, ao nível mundial, os setores público e privado têm usado uma estratégia válida, porém de alto risco futuro. Trata-se da obtenção de novas populações e/ou linhagens a partir de gerações avançadas de híbridos comerciais. Nos países onde existe proteção de cultivares, as sementes dos híbridos (F_1) disponíveis no mercado constituem-se em fontes de germoplasma (Parks, 1993), sendo tal procedimento perfeitamente viável e legítimo. Essa estratégia também se verifica nos países que não possuem regulamentação jurídica sobre o assunto. O mercado de produção de híbridos é altamente competitivo e está concentrado em poucas linhagens

consideradas elites. Tais materiais apresentam um *background* genético de elevado potencial produtivo, que atende às exigências atuais dos produtores de milho. Como os melhoristas precisam apresentar resultados promissores a curto prazo, faz sentido, obviamente, a exploração dos materiais que apresentam as características desejadas pelo mercado. Entretanto, deve-se atentar para o risco de estreitamento da base genética dos materiais desenvolvidos a partir dessa estratégia de melhoramento. Provavelmente, em um curto período de tempo todos os híbridos serão muito semelhantes e estarão compartilhando do mesmo *background* genético. Como consequência, esse procedimento deverá restringir consideravelmente a base genética dos materiais cultivados.

A busca por genótipos superiores em produtividade, resistentes a pragas e doenças, tolerantes aos estresses ambientais e de melhor qualidade nutricional, é bastante árdua, competitiva e de custo elevado. Assim, muitos melhoristas evitam trabalhar com genótipos selvagens, raças locais e materiais exóticos disponíveis nas coleções, alegando falta de tempo, recursos e muitas vezes dificuldade para identificar genes potencialmente úteis para o melhoramento. Marshall (1989) salientou que a dificuldade na identificação destes genes é o principal fator responsável pela baixa utilização destes tipos de acessos.

Pelo exposto até o momento, fica evidente a existência de uma lacuna entre as atividades de RGV e os programas de melhoramento. Enquanto os pesquisadores envolvidos com RGV coletam e conservam a variabilidade, no outro extremo os melhoristas não têm explorado a diversidade disponível, utilizando apenas sua própria coleção de trabalho.

5. UTILIZAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

O reconhecimento da importância dos recursos genéticos é praticamente incontestável. As atividades de rotina dos bancos de germoplasma já citadas anteriormente, demandam pesquisadores qualificados em diversas áreas do conhecimento, apresentam um custo elevado e o retorno é quase sempre a longo prazo. Além da conservação da variabilidade genética para uso futuro, um outro objetivo almejado é a utilização, pela clientela, dos acessos disponíveis.

Salhuana (1987) e Marshall (1989) apresentam ampla discussão sobre as causas da baixa utilização dos acessos disponíveis nos bancos de germoplasma. As principais causas são relacionadas a seguir: a) falta de documentação e descrição adequada das coleções; b) falta de informações desejadas pelos melhoristas; c) adaptação restrita dos acessos; d) número insuficiente de melhoristas, principalmente nos países em desenvolvimento; e) falta de avaliação das coleções; f) pouca disponibilidade de sementes, devido a esquemas de regeneração inadequados; g) troca de materiais entre os melhoristas; h) satisfação dos melhoristas com a variabilidade genética encontrada nos materiais elites; i) dificuldade de identificar genes potencialmente úteis; j) ausência de programas de pré-melhoramento (*pre-breeding*).

A baixa utilização dos bancos de germoplasma é uma realidade mundial, não sendo restrita ao Brasil ou aos outros países em desenvolvimento. No Brasil, Nass *et al.* (1993) realizaram um levantamento entre 34 melhoristas de milho, dos setores público e privado, para avaliar o nível de utilização dos recursos genéticos disponíveis

TABELA 5. Avaliação dos melhoristas de milho sobre a utilização, qualidade e quantidade de informações dos acessos disponíveis nos bancos de germoplasma do Brasil.

Utilização	(%)	Qualidade	(%)	Quantidade	(%)
Regularmente	14	Excelente	7	Mais que suficiente	3
Raramente	68	Boa	24	Suficiente	27
Não utiliza	18	Adequada	35	Insuficiente	67
		Inadequada	34	Muito suficiente	3

Fonte: Nass *et al.*, 1993

nos bancos de germoplasma (Tabela 5). A utilização regular dos acessos disponíveis nos bancos de germoplasma é muito baixa (14% dos melhoristas), sendo que a quantidade de informações sobre esses acessos foi considerada, por 70% dos pesquisadores, como o fator mais limitante para sua utilização.

Deve-se enfatizar também, que a troca de materiais entre melhoristas é prática comum e constitui-se numa excelente alternativa para ampliar a variabilidade genética nos programas de melhoramento. Além disso, os pesquisadores geralmente encontram suficiente variabilidade genética entre os materiais elites (Duvick, 1984; Paterniani, 1987; Peeters & Galwey, 1988; Nass *et al.*, 1993). Troyer (1990) salientou que, no melhoramento de milho, as linhagens elites são consideradas as melhores fontes de germoplasma, simplesmente porque elas contêm as combinações genéticas superiores para produtividade, as quais satisfazem plenamente as necessidades do mercado.

Crossa *et al.* (1990) sugeriram o uso de coleções de germoplasma para desenvolver novas populações heteróticas via seleção recorrente recíproca, através da exploração da capacidade de combinação. Essas populações podem ser empregadas na obtenção de novas linhagens e híbridos, na introgressão de genes em outras populações heteróticas, ou ainda, no desenvolvimento de variedades de polinização livre superiores através do melhoramento intrapopulacional.

Duas alternativas promissoras para elevar o nível de utilização dos acessos mantidos nos bancos de germoplasma têm merecido a atenção tanto de pesquisadores que trabalham diretamente com recursos genéticos quanto de melhoristas: os programas de pré-melhoramento (*pre-breeding*) e as coleções nucleares (*core collections*).

5.1 PRÉ-MELHORAMENTO (PRE-BREEDING)

5.1.1 CONCEITO E IMPORTÂNCIA

A alternativa mais promissora para servir de elo de ligação entre os RGV e os programas de melhoramento é a intensificação das atividades relacionadas com o pré-melhoramento (Figura 1). De acordo com Nass & Nishikawa (2001) as principais contribuições dos programas de pré-melhoramento são: a) síntese de novas populações base; b) identificação de genes potencialmente úteis; c) identificação de novos padrões heteróticos; d) melhor conhecimento dos acessos *per se* e em cruzamentos; e) maior quantidade de informações sobre os acessos; f) auxílio no estabelecimento de coleções nucleares (*core collections*). Assim, é possível afirmar que tais programas tendem a aumentar a probabilidade de utilização dos RGV. A carência desse tipo de programa foi considerada por Marshall (1989) como um dos principais fatores responsáveis pelo uso limitado das coleções de germoplasma.

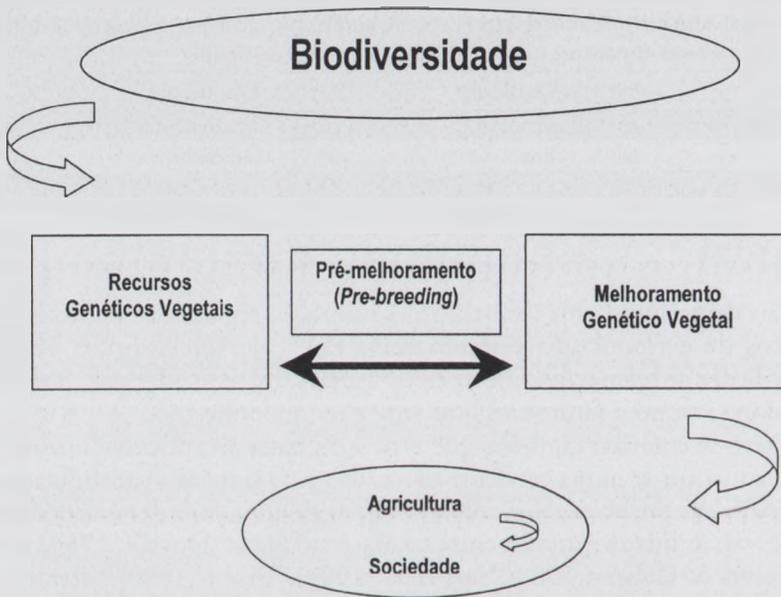


FIGURA 1. Pré-melhoramento como ponte entre os recursos genéticos vegetais e o melhoramento genético.

Nass & Paterniani (2000) conceituaram pré-melhoramento (*pre-breeding*) como o conjunto de atividades que visam à identificação de caracteres e/ou genes de interesse, presentes em materiais não adaptados (exóticos ou semi-exóticos) ou que não foram submetidos a qualquer processo de melhoramento, e sua posterior incorporação nos materiais adaptados de elevado potencial produtivo (elites).

Diferentes interpretações são encontradas na literatura para o termo exótico. Para fins de pré-melhoramento a definição mais adequada é apresentada por Hallauer & Miranda Filho (1988) onde germoplasma exótico inclui todos os materiais que não apresentam utilidade imediata sem uma seleção prévia para adaptação em uma determinada área. Nesse contexto, os materiais exóticos podem ser constituídos por raças, populações, variedades, linhagens, entre outros. Conseqüentemente, materiais semi-exóticos são oriundos do cruzamento de materiais exóticos com adaptados, onde diferentes proporções de introgressão podem ser obtidas e avaliadas. De acordo com Hallauer (1978), o procedimento mais comum em estudos com germoplasma exótico tem sido a avaliação de populações semi-exóticas. Para que resultados promissores sejam alcançados com materiais exóticos é preciso permitir suficiente recombinação genética acompanhada por seleção branda. O uso de germoplasma exótico no melhoramento é discutido em outro capítulo deste livro.

A biotecnologia pode contribuir para acelerar os programas de pré-melhoramento. O uso de mapas genéticos baseados em marcadores moleculares ligados a genes de interesse proporciona uma seleção mais rápida dos caracteres no germoplasma, agilizando sua incorporação nos materiais elites do programa de melhoramento (Callow *et al.*, 1997). Nesse contexto, a seleção assistida por marcadores moleculares terá papel relevante na eficiência dos programas de melhoramento no futuro (Kearsey, 1997).

Segundo Taba (1994), no caso do banco de germoplasma do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT), o pré-melhoramento permitirá uma pronta utilização da coleção pelos melhoristas para a obtenção de caracteres específicos de interesse ou simplesmente servirá para ampliar a diversidade do germoplasma melhorado. Esse autor salientou que as coleções do Caribe serão prioritárias nos trabalhos de pré-melhoramento e que no banco de milho do CIMMYT já foi iniciada uma avaliação mais detalhada desse germoplasma, devido ao interesse manifestado pelos melhoristas tanto de clima tropical quanto temperado.

Obviamente, os trabalhos de pré-melhoramento deverão consumir tempo e recursos significativos. Para os melhoristas de empresas privadas, que geralmente são mais isolados e convivem com a necessidade de resultados a curto prazo, a utilização de exóticos será maior, caso já tenham sido submetidos aos programas de pré-melhoramento. No entanto, um fator decisivo para que tais programas sejam bem sucedidos, é a necessidade de estreita cooperação entre melhoristas dos setores público e privado (Smith & Duvick, 1989).

Várias são as alternativas para incorporar novas características nos materiais adaptados, sendo que a escolha da metodologia a ser empregada depende da natureza genética do caráter, do número de genes envolvidos, da herdabilidade do caráter, das interações com o ambiente, da facilidade de realização de cruzamentos e de técnicas ou protocolos disponíveis caso a biotecnologia seja empregada (Nass & Nishikawa, 2001).

O método do retrocruzamento é uma alternativa eficiente para a transferência de caracteres de herança simples e também tem sido utilizado na adaptação de germoplasma exótico. Além disso, com o emprego de marcadores moleculares pode-se abreviar o número de gerações de retrocruzamento para a introgressão de genes exóticos (Tanksley *et al.*, 1981), assim como a utilização de simulação computacional pode auxiliar na identificação de germoplasma com alelos superiores (Gerloff & Smith, 1988).

Outra possibilidade é o uso de dialelos, esquema que envolve todos os cruzamentos possíveis entre um determinado número de linhagens ou variedades. Tal metodologia tem sido amplamente utilizada, pois fornece dados que permitem a predição de médias e um conhecimento adequado das propriedades intrínsecas do material avaliado. Além disso, também possibilita a identificação de padrões heteróticos de interesse para exploração de híbridos.

5.1.2 PROGRAMAS DE PRÉ-MELHORAMENTO

As contribuições dos programas de pré-melhoramento podem ser melhor avaliadas por exemplos práticos, como resumidos a seguir.

O tomate é um exemplo excelente para ressaltar a importância dos parentes silvestres para aumentar a resistência aos estresses ambientais. Segundo Hoyt (1992) o tomate é a planta cultivada que mais se beneficiou dos genes existentes nos parentes silvestres, ressaltando que sem eles o tomate moderno não existiria. Na Tabela 6 são apresentadas algumas dessas fontes utilizadas no melhoramento do tomate. A conservação e o uso dos parentes silvestres para o melhoramento do tomate evidenciam a importância desses RGV e servem de modelo para outras culturas.

Em sorgo, Smith & Duvick (1989) salientaram a importância dessa iniciativa para o melhoramento, especialmente nos Estados Unidos da América e outras regiões de clima temperado. Um programa de pré-melhoramento foi desenvolvido com objetivo de adaptar os acessos de sorgo disponíveis nas coleções de germoplasma para as condições de clima temperado. Esse programa foi conduzido com parceria entre a *Texas A. & M. University*, o *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics* (ICRISAT) e alguns melhoristas do setor privado, proporcionando um avanço significativo no melhoramento de sorgo pela incorporação de germoplasma exótico. Foram identificados acessos com resistência às principais pragas e doenças (China), com melhor qualidade de grão (Índia), tolerantes a seca e com melhor estabilidade (África).

Em milho, um exemplo relevante de programa de pré-melhoramento foi o *Latin American Maize Project* (LAMP), com participação de 12 países (Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Chile, Estados Unidos, Guatemala, México, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela). Esse projeto teve por objetivo avaliar, para uso futuro, as características agrônômicas dos acessos de milho mantidos nos bancos de germoplasma desses países. Na primeira etapa foram avaliados cerca de 15.000 acessos, através de um esforço conjunto de melhoristas dos setores público e privado. Os resultados obtidos permitiram determinar com maior precisão a situação atual dos bancos de germoplasma, o número de acessos por banco, a quantidade e qualidade das sementes por acesso e a relação dos acessos que necessitavam ser regenerados.

Pollak (1993) apresentou os resultados da avaliação de 562 acessos da coleção de milho originário do Caribe. Essa avaliação foi conduzida em Porto Rico e fez parte das duas etapas iniciais do LAMP. Após a primeira avaliação foram selecionados

TABELA 6. Parentes silvestres e características de interesse para o melhoramento do tomate.

Fonte	Caracteres de Interesse
<i>Lycopersicon peruvianum</i>	Resistência a várias pragas; rica fonte de vitamina C.
<i>Lycopersicon pennellii</i>	Resistência a seca; aumenta teores de vitaminas A e C e de açúcares.
<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i>	Resistência a doenças, menor acidez, cor intensa, maior conteúdo de vitaminas e sólidos solúveis.
<i>Lycopersicon esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	Resistência a altas temperatura e umidade, a fungos que atacam as folhas e raízes.
<i>Lycopersicon chmielewskii</i>	Intensidade da cor do fruto e alto teor de açúcar.
<i>Lycopersicon chilense</i>	Resistência a seca.
<i>Lycopersicon chesmanii</i>	Tolerância a água do mar e pedúnculos sem articulações.
<i>Lycopersicon hirsutum</i>	Resistências a insetos, ácaros, vírus e outras doenças; tolerância ao frio.
<i>Lycopersicon parviflorum</i>	Intensidade na cor dos frutos e altos teores de sólidos solúveis.

20% dos acessos com base na produção de grãos. A produção de grãos destes acessos variou de 3.937 a 7.773 kg ha⁻¹, sendo que 18 acessos foram mais produtivos que a variedade local melhorada “Diente de Caballo”, utilizada como testemunha em ambas as avaliações. Foram identificados acessos com boa produção de grãos e boa qualidade de espiga para utilização no Caribe e em outros programas de melhoramento em ambientes tropicais.

No Brasil, cerca de 1.111 acessos preencheram as condições exigidas pelo LAMP (mínimo de 1 Kg de sementes e poder germinativo > 75%), sendo que todos esses acessos são adaptados para altitudes inferiores a 2.000m. Na Tabela 7 são apresentados os acessos selecionados após dois anos de avaliações em diferentes ambientes no Brasil.

Outra iniciativa para o enriquecimento da variabilidade genética em milho, em desenvolvimento, é o *Germplasm Enhancement of Maize* (GEM), que tem por objetivo incorporar germoplasma de origem tropical nas linhagens elites de milho dos Estados Unidos da América. Os 58 acessos de milho mais promissores selecionados pelo LAMP estão sendo utilizados no GEM. Os acessos selecionados foram enviados para as empresas de sementes que efetuaram os cruzamentos desses acessos com as linhagens elites de cada empresa. Os cruzamentos (50% germoplasma exótico) foram avaliados para produção, doenças e características especiais (amido, proteína e óleo). Sementes remanescentes desses cruzamentos foram enviadas para outro colaborador para novos cruzamentos (25% germoplasma exótico) e avaliadas para as mesmas características anteriores. Após essas avaliações, os cruzamentos superiores identificados serão submetidos a autofecundações e posterior formação de sintéticos. Os materiais resultantes dessa iniciativa serão mantidos e distribuídos pelo GEM, cuja coordenação está sob responsabilidade da Dra. Linda Pollak, em Ames (Iowa) nos Estados Unidos da América.

No Brasil, o início da década de 90 foi marcado pelo incremento da ocorrência de doenças foliares na cultura do milho. Como salientado por Pereira (1995) o conhecimento do comportamento dos materiais, associado à região e época de plantio favoráveis aos patógenos, é de fundamental importância no controle das principais doenças do milho.

Diante desse quadro preocupante foi estabelecido, o Núcleo de Apoio à Pesquisa em Milho (NAP-MILHO) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), composto por instituições públicas e privadas, que realizou uma ampla avaliação do germoplasma de milho disponível no Brasil para as principais doenças foliares. Neste estudo foram avaliados aproximadamente 1.300 acessos e 140 populações com algum grau de melhoramento genético, em 12 locais representativos da cultura no país. As doenças consideradas nesse projeto foram: mancha por *Exserohilum turcicum* (*Exserohilum turcicum*), ferrugem polysora (*Puccinia polysora*), ferrugem branca ou tropical (*Physophela zae*), mancha por *Phaeosphaeria* (*Phaeosphaeria maydis*) e enfezamentos e viroses do milho (micoplasma/espiroplasma e viroses). Miranda Filho *et al.* (2000) apresentaram os resultados das avaliações dos acessos pelo NAP-MILHO. A partir dos materiais promissores identificados foram sintetizadas novas populações com alta concentração de genes para resistência às respectivas doenças.

As perspectivas dos programas de pré-melhoramento em milho são discutidas em detalhes nos trabalhos de Nass (1999) e Nass & Paterniani (2000).

TABELA 7. Características dos acessos de milho selecionados nos estágios I e II do LAMP no Brasil. *

Código do Acesso	Identificação	Florescimento Masc. Fem. (dias)		Altura Planta (cm)	Altura Espiga (cm)	Produção (Kg ha ⁻¹) 15% umidade	Coloração do Grão
BRA 024767	Brasil 2296	67	73	185	100	3.547	Amarelo
BRA 054241	Asteca	59	65	190	115	3.469	Amarelo
BRA 044369	31136 Comp	64	69	140	60	3.183	Amarelo
BRA 044318	31116 Comp	69	73	150	75	3.150	Amarelo
BRA 053627	Caiano	69	72	185	115	2.938	Amarelo
BRA 028029	CMS 06	70	71	227	97	6.908	Amarelo
BRA 031381	Tuxpeño I	70	72	199	78	5.988	Branco
BRA 051501	PE 011*	-	71	225	125	3.214	Amarelo
BRA 050598	AL 015	-	69	210	115	3.106	Amarelo
BRA 051675	PE 027	-	67	215	105	3.015	Amarelo
BRA 050024	Comp. Manaus*	-	70	210	125	2.990	Amarelo
BRA 052060	SE 033	-	74	210	125	2.965	Amarelo
BRA 051721	RN 004	-	67	220	120	3.068	Amarelo
BRA 051764	SE 003	-	72	245	140	3.000	Amarelo
BRA 052019	SE 028	-	69	210	130	2.892	Amarelo
BRA 052051	SE 032	-	-	240	150	2.328	Laranja
BRA 051501	PE 011*	60	61	294	148	6.873	Amarelo
BRA 030929	BA 157	62	65	274	151	5.508	Amarelo
BRA 051039	BA 038	62	62	256	125	5.857	Amarelo
BRA 052957	Flint Comp	61	62	263	135	5.362	Amarelo
BRA 050024	Comp. Manaus*	59	61	239	109	6.101	Amarelo
BRA 051403	PE 001	64	63	241	131	4.924	Laranja
BRA 044083	Comp. Jaíba III	61	62	228	115	5.473	Amarelo
BRA 043915	CMS 0508 III	65	67	208	88	3.950	Amarelo

*Acessos selecionados em dois ambientes

#Fonte: Santos, M.X. (Comunicação Pessoal)

5.2 COLEÇÕES NUCLEARES (CORE COLLECTIONS)

A existência de programas bem sucedidos de pré-melhoramento deverá contribuir efetivamente com uma grande quantidade de informações para o estabelecimento de coleções nucleares (*core collections*).

A idéia de organizar coleções nucleares surgiu no início da década de 80, quando Frankel, enfatizou a necessidade de reduzir o tamanho das coleções de germoplasma existentes (Brown, 1989a). A coleção nuclear tem por objetivo principal representar a diversidade genética da espécie e seus parentes silvestres com o mínimo de repetitividade. Com base na teoria estatística dos alelos neutros, Brown (1989a) sugeriu que 10% do total dos acessos disponíveis representa aproximadamente 70% da variabilidade genética da coleção e, no caso de coleções muito grandes, a coleção nuclear não deve exceder 3.000 entradas.

Deve-se ressaltar que o estabelecimento destas coleções não interfere no papel estratégico das coleções de base como repositório maior da variabilidade genética existente (Brown, 1989a,b; Vilela-Morales *et al.*, 1997). Vilela-Morales (1995) enfatizou dois aspectos estratégicos na organização da coleção nuclear: a) as atividades de recursos genéticos e, principalmente, o estabelecimento de coleções nucleares são ações tipicamente interinstitucionais; b) seu enfoque sistêmico, o qual permite considerar os diferentes aspectos do conhecimento relacionado com a diversidade genética.

Na formação da coleção nuclear algumas informações são de fundamental importância, entre elas: dados de origem dos acessos; dados de caracterização incluindo informações taxonômicas e de marcadores moleculares e dados de avaliação de caracteres agrônômicos. Aspectos teóricos e práticos sobre coleção nuclear são amplamente discutidos por Frankel & Brown (1984) e Brown (1989a,b), os quais sugerem alternativas para a adequada estratificação dos acessos com base em características morfológicas e agrônômicas. Crossa *et al.* (1994) consideraram como essencial na estratificação, o conhecimento do número ótimo de acessos para conservar a maioria dos alelos presentes na coleção e a utilização de critérios adequados para a distribuição dos acessos nos respectivos estratos. As análises multivariadas constituem-se em excelentes ferramentas para auxiliar na estratificação dessas coleções (Brown, 1989a; Crossa, 1994; Taba *et al.*, 1994; Diwan *et al.*, 1995).

Diversas coleções nucleares têm sido desenvolvidas (Tabela 8), entretanto, há necessidade de validar essas coleções, no sentido de verificar se realmente estão representando a variabilidade existente nas respectivas coleções de base.

Talvez a característica mais importante da coleção nuclear seja seu aspecto dinâmico, permitindo que após seu estabelecimento e validação, novos acessos sejam incorporados ou excluídos. Desta forma, caso sejam identificados acessos com características de interesse não presentes na composição inicial da coleção nuclear, basta introduzi-los no conjunto. Destaca-se também a reduzida probabilidade da coleção nuclear manter acessos muito semelhantes, obviamente esse fato está diretamente relacionado aos critérios utilizados na sua estratificação. Vilela-Morales *et al.* (1997) destacaram três vantagens da coleção nuclear em relação a coleção ativa:

TABELA 8. Exemplos de coleções nucleares (*core collections*).

Cultura	Referência
Alfafa	Basigalup <i>et al.</i> (1995)
Amendoim	Holbrook <i>et al.</i> (1993)
Couve	Boukema <i>et al.</i> (1997)
Ervilha	Simon & Hannan (1995)
Grão-de-bico	Hannan <i>et al.</i> (1994)
Lentilha	Erskine & Muehlbauer (1991)
Mandioca	Cordeiro <i>et al.</i> (1995)
Milho	Taba <i>et al.</i> (1994)
Milho	Abadie <i>et al.</i> (1998)
Milho	Taba <i>et al.</i> (1999)
Trevo	Kouame & Quesenberry (1993)

a) níveis menores de duplicação e redundância genética; b) níveis mais expressivos de acessos com informações sobre identificação ou passaporte, de caracterização e avaliação; c) menor número de acessos e menor custo operacional, apresentando, conseqüentemente, maiores chances do germoplasma ser utilizado.

O CIMMYT tem realizado vários esforços no sentido de desenvolver metodologia para o estabelecimento de coleções nucleares em milho. Na literatura estão disponíveis os resultados obtidos com a raça Tuxpeño (Crossa *et al.*, 1994; Taba *et al.*, 1994), sendo que as estratégias de amostragem e as técnicas multivariadas apresentam-se como ferramentas indispensáveis no processo de formação destas coleções. Crossa *et al.* (1994) enfatizaram que a caracterização do germoplasma da coleção nuclear por marcadores moleculares (RFLPs, RAPDs) e enzimáticos deve contribuir com informações adicionais que, juntamente com dados morfológicos, geográficos e agrônômicos, podem auxiliar na avaliação da diversidade genética e modificar a composição inicial da coleção nuclear.

No Brasil, até o momento, ainda são incipientes as ações visando ao estabelecimento de coleções nucleares. Entretanto, esta linha de pesquisa tem merecido atenção prioritária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que juntamente com outros parceiros e em uma primeira etapa, estabeleceu coleções nucleares de mandioca (Cordeiro *et al.*, 1995) e de milho (Abadie *et al.*, 1997; 1998; Taba *et al.*, 1999).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADIE, T.; MAGALHÃES, J.R.; PARENTONI, S.N.; CORDEIRO, C.; ANDRADE, R.V. Uma coleção núcleo de germoplasma de milho do Brasil. *Brazilian Journal of Genetics*, v.20, p.165, 1997. Supplement.
- ABADIE, T.; MAGALHÃES, J.R.; CORDEIRO, C.; PARENTONI, S.N.; ANDRADE, R.V. A classification for Brazilian maize landraces. *Plant Genetic Resources Newsletter*, n.114, p.43-44, 1998.
- ALLARD, R.W. *Principles of plant breeding*. London: John Wiley, 1960.
- BASIGALUP, D.H.; BARNES, D.K.; STUCKER, R.E. Development of a core collection for perennial *Medicago* plant introductions. *Crop Science*, v.35, p.1163-1168, 1995.
- BATISTA, M.F.; FONSECA, J.N.L.; TENENTE, R.C.V.; MENDES, M.A.S.; URBEN, A.F.; OLIVEIRA, M.R.V.; FERREIRA, D.N. Intercâmbio e quarentena de germoplasma vegetal. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, n.6, p.32-39, 1998.
- BOUKEMA, I.W.; VAN HINTUM, T.J.L.; ASTLEY, D. The creation and composition of the *Brassica oleracea* core collection. *Plant Genetic Resources Newsletter*, n.111, p.29-32, 1997.
- BROWN, A.D.H. The case for core collections. In: BROWN, A.D.H.; FRANKEL, O.H.; MARSHALL, D.R.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. Cambridge: University Press, 1989a. p.136-156.
- BROWN, A.H.D. Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome*, v.31, p.818-824, 1989b.
- COOPER, H.D.; SPILLANE, C.; KERMAI, I.; ANYSHETY, N.M. Harnessing plant genetic resources for sustainable agriculture. *Plant Genetic Resources Newsletter*, n.114, p.1-8, 1998.
- CORDEIRO, C.M.T.; VILELA-MORALES, E.A.; FERREIRA, P.; ROCHA, D.M.S.; COSTA, I.R.S.; VALOIS, A.C.C.; SILVA, S. Towards a Brazilian core collection of cassava. In: HODGKIN, T.; BROWN, A.D.H.; Van HITUM, T.J.L.; VILELA-MORALES, E.A. (Ed.) *Core collections of plant genetic resources*. New York: John Wiley, 1995. p.155-167.
- COSTA, I.R.S. Documentação e informatização de recursos genéticos. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE – SIRGEALC, 2., Brasília, 1999. *Anais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 4p. /CD-ROM/
- CROSSA, J. Statistical genetics in genetic resources conservation. In: TABA S. (Ed.) *The CIMMYT maize germplasm bank: genetic resources, preservation, regeneration, maintenance, and use*. Mexico, 1994. p.50-51. (Maize Program Special Report)
- CROSSA, J.; TABA, S.; WELLHAUSEN, E.J. Heterotic patterns among Mexican races of maize. *Crop Science*, v.30, p.1182-1190, 1990.
- CROSSA, J.; TABA, S.; EBERHART, S.A.; BRETTEING, P.; VENCOSKY, R. Practical considerations for maintaining germplasm in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, v.89, p.89-95, 1994.

- DIWAN, N.; McINTOSH, M.S.; BAUCHAN, G.R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species. *Theoretical and Applied Genetics*, v.90, p.755-761, 1995.
- DODDS, J.H.; WATANABE, K. Biotechnical tools for plant genetic resources management. *Diversity*, v.6, p.26-28, 1990.
- DUVICK, D.N. Genetic diversity in major farm crops on the farm and in reserve. *Economic Botany*, v.38, p.161-178, 1984.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behavior. *Journal of Experimental Botany*, v.41, p.1167-1174, 1990.
- ERSKINE, W.; MUEHLBAUER, F.J. Allozyme and morphological variability, outcrossing rate and core collection formation in lentil germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, v.83, p.119-125, 1991.
- ESQUINAS-ALCÁZAR, J.T. Plant genetic resources. In: HAYWARD, M.D.; BOSEMARK, N.O.; ROMAGOSA, I. (Ed.) *Plant breeding: principles and prospects*. London: Chapman & Hall, 1993. p.33-51.
- FALAD, M.G.R.; SALOMÃO, A.N.; FERREIRA, F.R.; GONDIM, M.T.P.; WETZEL, M.M.V.S.; MENDES, R.A.; GOES, M.; MIRANDA, A.R. *Manual de procedimentos para conservação de germoplasma-semente a longo prazo na Embrapa*. Brasília: EMBRAPA, CENARGEN, 1998. 21p. (Documentos, 30).
- FAO. *Global plan of action for the conservation and sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture*. Rome, 1996.
- FRANKEL, O.H. Genetic conservation in perspective. In: FRANKEL, O.H.; BENNETT, E. (Ed.) *Genetic resources in plants: their exploration and conservation*. Oxford: Blackwell, 1970. p.469-489.
- FRANKEL, O.H. Principles and strategies of evaluation. In: BROWN, A.H.D.; FRANKEL, O.H.; MARSHALL, D.R.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. London: Cambridge University Press, 1989. p.245-260.
- FRANKEL, O.H.; BENNETT, E. *Genetic resources in plants: their exploration and conservation*. Oxford: Blackwell, 1970. 554p.
- FRANKEL, O.H.; HAWKES, J.G. *Plant genetic resources for today and tomorrow*. London: Cambridge University Press, 1975.
- FRANKEL, O.H.; BROWN, A.H.D. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: HOLDEN, J.H.W.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *Crop genetic resources: conservation and evaluation*. London: George Allen & Unwin, 1984. p.249-257.
- FORD-LLOYD, B.; JACKSON, M. *Plant genetic resources: an introduction to their conservation and use*. Moulton: Castlefield Press, 1986. 146p.
- GERLOFF, J.E.; SMITH, O.S. Choice of method for identifying germplasm with superior alleles. 2. Computer simulation results. *Theoretical and Applied Genetics*, v.76, p.217-227, 1988.
- GIACOMETTI, D. Introdução e intercâmbio de germoplasma. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1988a. p.43-55.
- GIACOMETTI, D. Descritores para caracterização e avaliação. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1988b. p.129-134.
- GOEDERT, C.O. Conservação de germoplasma-semente. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1988. p.78-95.
- GOODMAN, M.M. Genetic and germplasm stocks worth conserving. *Journal of Heredity*, v.81, p.11-16, 1990.
- GUARINO, L.; RAO, V.R.; REID, R. (Ed.) *Collecting plant genetic diversity*. Wallingford, 1995. 748p.
- QUEDES, A.C.; GOEDERT, C.O.; BUSTAMANTE, P.G.; MOREIRA, J.R.A. In: BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. *Primeiro relatório nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica: artigo 9; conservação ex situ no Brasil*. Brasília: MMA, 1998. p.1-43.
- HALLAUER, A.R. Potential of exotic germplasm for maize improvement. In: WALDEN, D.B. (Ed.) *Maize breeding and genetics*. New York: John Wiley, 1978. p.229-247.
- HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. *Quantitative genetics in maize breeding*. Ames: Iowa University Press, 1988. 468p.
- HANNAN, R.M.; KAISER, W.J.; MUEHLBAUER, F.J. Development and utilization of the USDA chickpea core collection. *Agronomy Abstracts*. Madison: ASA, 1994. p.217.
- HARRINGTON, J.F. Seed and pollen storage for conservation of plant gene resources. In: FRANKEL, O.H.; BENNETT, E. (Ed.) *Genetic resources in plants: their exploration and conservation*. Oxford: Blackwell, 1970. p.501-521.
- HEISER JR., C.B. *Sementes para a civilização: a história da alimentação humana*. São Paulo: EDUSP, 1977. 253p.
- HOLBROOK, C.C.; ANDERSON, W.F.; PITTMAN, R.N. Selection of a core collection from the U.S. germplasm collection of peanut. *Crop Science*, v.33, p.859-861, 1993.
- HOLDEN, J.H.W.; WILLIAMS, J.T. *Crop genetic resources: conservation and evaluation*. London: George Allen & Unwin, 1984. 296p.
- HOYT, E. *Conservação dos parentes silvestres das plantas cultivadas*. Wilmington: Addison-Wesley Iberoamericana, 1992. 52p.
- HOWES, C. Guidelines for developing descriptor lists. *Plant Genetic Resources Newsletter*, n.45, p.26-32, 1981.
- IBPGR. *Report of the third external review of the International Board for Plant Genetic Resources*. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1991. 85p.

- INSTITUTO DE RECURSOS MUNDIAIS. A estratégia global da biodiversidade. Curitiba: Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, 1992. 1v.
- KOUAME, C.N.; QUESENBERRY, K.H. Cluster analysis of a world collection of red clover germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, v.40, p.39-47, 1993.
- LACY, W.B. The global plant genetic resources system: a competition-cooperation paradox. *Crop Science*, v.35, p.335-345, 1995.
- LLERAS, E. Coleta de recursos genéticos vegetais. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1988. p.23-42.
- LYMAN, J.M. Progress and planning for germplasm conservation of major food crops. *Plant Genetic Resources Newsletter*, v.60, p.3-21, 1984.
- MARSHALL, D.R. Limitations to the use of germplasm collections. In: BROWN, A.D.H.; FRANKEL, O.H.; MARSHALL, D.R.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p.105-120.
- McNEELY, J.A.; MILLER, K.R.; REID, W.V.; MITTERMEIER, R.A.; WERNER, T.B. *Conserving the world's biological diversity*. Gland: IUCN; Washington: IUCN, WRI, CI, WWF-US, World Bank, 1990. 193p.
- MIRANDA FILHO, J.B.; NASS, L.L.; SANTOS, M.X.; REGITANO NETO, A. *Avaliação de acessos de milho para resistência a doenças foliares*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 147p. (Circular Técnica, 3)
- NASS, L.L. Pré-melhoramento em milho (*Zea mays* L.). In: MARIANTE, A.S.; BUSTAMANTE, P.G. (Ed.) *SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE - SIRGEALC*, 2., Brasília, 1999. *Anais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 4p. /CD-ROM/
- NASS, L.L.; NISHIKAWA, M.A.N. Pré-melhoramento de germoplasma vegetal. In: GOES, M. (Org.) *Tópicos em recursos genéticos*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. /No Prelo/
- NASS, L.L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Scientia Agricola*, v.57, p.581-587, 2000.
- NASS, L.L.; PELLICANO, I.J.; VALOIS, A.C.C. Utilization of genetic resources for maize and soybean breeding in Brazil. *Brazilian Journal of Genetics*, v.16, p.983-988, 1993.
- PARKS, J.S. Genetic minimum distance for corn: an update from the ASTA corn variety identification subcommittee. In: ANNUAL CORN AND SHORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 48., Chicago, 1993. *Proceedings*. Washington: American Trade Association, 1993. p.16-29.
- PATERNIANI, E. An evaluation of the genetic diversity in the varieties currently utilized. In: PLANT BREEDING RESEARCH FORUM; report 1985. Caracas, 1987. p.45-58.
- PATERNIANI, E. Diversidade genética em plantas cultivadas. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1988. p.75-77.
- PEETERS, J.P.; WILLIAMS, J.T. Towards better use of genebanks with special reference to information. *Plant Genetic Resources Newsletter*, v.60, p.22-32, 1984.
- PEETERS, J.P.; GALWEY, N.W. Germplasm collections and breeding needs in Europe. *Economic Botany*, v.42, p.503-521, 1988.
- PEREIRA, O.A.P. Análise da situação atual de doenças de milho no Brasil e disponibilidade de germoplasma resistente. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 18., Piracicaba, 1995. *Anais*. Piracicaba: ESALQ/USP, 1995. p.61-66.
- PLUCKNETT, D.L.; SMITH, N.J.H.; WILLIAMS, J.T.; ANISHETY, N.M.I. *Gene banks and the world's food*. Princeton: University Press, 1987. 247p.
- POLLAK, L.M. Evaluation of Caribbean maize accessions in Puerto Rico. *Tropical Agriculture*, v.70, p.8-12, 1993.
- QUEROL, D. *Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido: abordagem sócio-econômica*. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 206p.
- RAO, V.R.; RILEY, K.W. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Genetic Resources Newsletter*, n.97, p.3-20, 1994.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science Technology*, v.1, p.499-514, 1973.
- ROBERTS, E.H.; ELLIS, R.H. The implications of deterioration of orthodox seeds during storage for genetic resources conservation. In: HOLDEN, J.H.W.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *Crop genetic resources: conservation and evaluation*. London: George Allen & Unwin, 1984. p.18-37.
- ROBERTS, E.H.; KING, M.W.; ELLIS, R.H. Recalcitrant seeds: their recognition and storage. In: HOLDEN, J.H.W.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *Crop genetic resources: conservation and evaluation*. London: George Allen & Unwin, 1984. p.38-52.
- SALHUANA, W. Strategies for increasing the use of germplasm. In: PLANT BREEDING RESEARCH FORUM; report 1985. Caracas, 1987. p.141-172.
- SIMON, C.J.; HANNAN, R.M. Development and use of core subsets of cool-season food legume germplasm collections. *HortScience*, v.30, p.907, 1995.
- SMITH, J.C.S.; DUVICK, D.N. Germplasm collections and the private plant breeder. In: BROWN, A.H.D.; FRANKEL, O.H.; MARSHALL, D.R.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. London: Cambridge University Press, 1989. p.17-31.
- TABA, S. (Ed.) *The CIMMYT maize germplasm bank: genetic resources, preservation, regeneration, maintenance, and use*. Mexico, 1994. p.52-59: The future: needs and activities. (Maize Program Special Report)

- TABA, S.; PINEDA, F.E.; CROSSA, J. Forming core subsets from the Tuxpeno race complex. In: TABA S. (Ed.) *The CIMMYT maize germplasm bank: genetic resources, preservation, regeneration, maintenance, and use*. Mexico, 1994. p.60-81. (Maize Program Special Report)
- TABA, S.; DÍAZ, J.; RIVAS, M. Evaluation of dent maize races from Brazil to develop a core subset. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE – SIRGEALC, 2., Brasília, 1999. *Anais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. /CD-ROM/
- TANKSLEY, S.D.; MEDINA-FILHO, H.; RICK, C.M. The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato – basis of an early screening procedure. *Theoretical and Applied Genetics*, v.60, p.291-296, 1981.
- TROYER, A.F. A retrospective view of corn genetic resources. *Journal of Heredity*, v.81, p.17-24, 1990.
- VALLS, J.F.M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1988. p.106-128.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. Brasília: Embrapa, Cenargen, 1986. 15p. (Boletim de Pesquisa, 1).
- VILELA-MORALES, E.A. Documentação e informática de recursos genéticos. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, 1988. *Anais*. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1988. p.135-147.
- VILELA-MORALES, E.A. Genepools e core collections como estratégias para conservação e uso dos recursos genéticos. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1., Campinas, 1995. *Resumos*. Campinas: IAC; Brasília: CENARGEM, 1995. p.7-8.
- VILELA-MORALES, E.A. Princípios genéticos da informação para recursos genéticos vegetais. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE – SIRGEALC, 2., Brasília, 1999. *Anais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 8p. /CD-ROM/
- VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L. *Recursos genéticos vegetales*. Brasília: Embrapa, SPI; Cenargen, 1997. 78p.
- WALTER, B.M.T.; CAVALCANTI, T.B. *Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2001. /No Prelo/
- WILLIAMS, J.T. Practical considerations relevant to effective evaluation. In: BROWN, A.H.D.; FRANKEL, O.H.; MARSHALL, D.R.; WILLIAMS, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. London: Cambridge University Press, 1989. p.235-244.