



Capítulo 2

CONSERVAÇÃO EX-SITU, PESQUISA E UTILIZAÇÃO DE ESPÉCIES NATIVAS

Nelcimar Reis Sousa¹

Aparecida das G. Claret de Souza²

Introdução

A conservação *ex-situ* tem sido adotada principalmente para suprir programas de melhoramento de espécies vegetais de importância comercial e potencial. A estratégia consiste em resgatar amostras da variabilidade genética, natural ou em condições de cultivo. Nos últimos anos, para atender às necessidades atuais e futuras de caracteres úteis, a implementação de novas metodologias de organização e avaliação de germoplasma tem incentivado pesquisas e, conseqüentemente, o aproveitamento mais intensivo das coleções existentes.

Faz-se necessário estabelecer a distinção entre os produtos finais da conservação. O termo recursos genéticos aplica-se ao conjunto de amostras e populações de plantas, animais ou microorganismos, obtido com o objetivo de tornar disponíveis caracteres genéticos úteis e com valor atual ou futuro (IBPGR, 1991). Hoyt (1992) distingue cinco categorias de recursos genéticos de plantas:

- ◆ parentes silvestres;
- ◆ populações locais e cultivares primitivas;
- ◆ cultivares obsoletas;
- ◆ linhas avançadas, mutações e outros produtos de programas de melhoramento;
- ◆ cultivares modernas;

¹Eng.º Agr.º, M.Sc., Embrapa Amazônia Ocidental, Caixa Postal 319, CEP 69011-970, Manaus, AM.
nelcimar@cpaa.embrapa.br

²Eng.º Agr.º, Dr., Embrapa Amazônia Ocidental.

Germoplasma refere-se ao material que constitui a base física da herança e se transmite de uma geração para outra por meio de células reprodutivas (IBPGR, 1991). Logo, o germoplasma de uma espécie pode ser representado por plantas *in vivo* ou *in vitro*, hastes, sementes ou quaisquer estruturas reprodutivas possíveis de serem conservadas, sem perder a capacidade de repassar alelos para as próximas gerações.

A adequação das coleções para fornecer genes úteis para programas atuais e futuros seria dependente de como os esforços têm sido bem sucedidos em obter boa representação da diversidade genética existente dentro de espécies cultivadas e parentes próximos e sobre a qualidade dos procedimentos e meios de preservação (Fitzgerald, 1988). O sucesso das etapas envolvidas na conservação e utilização dos recursos genéticos pela pesquisa e sociedade exige planejamento detalhado e aproximado da realidade executável.

Procedimentos de coleta e conservação

O resgate de germoplasma, independente dos propósitos de evitar erosão genética ou de atender a demanda imediata de programas de melhoramento, deve estar assegurado por um eficiente sistema de conservação em longo prazo. Moore (1988) destaca três elementos essenciais para o sucesso da manutenção de germoplasma:

- ◆ estabelecimento da coleção em local adequado;
- ◆ identificação correta dos acessos;
- ◆ capacidade para a avaliação dos acessos.

A aplicação de procedimentos usuais de coleta e conservação também é importante no processo. Algumas peculiaridades regionais devem ser consideradas quando o germoplasma de interesse é nativo, por isso, aspectos relevantes oriundos de experiências na Região Amazônica serão acrescentados durante o desenvolvimento do assunto.

1. Estratégias de coleta

As metodologias de amostragens de germoplasma para fins de coleta, até a década de 1980, eram destinadas principalmente a espécies de importância econômica e alimentar, essencialmente cereais com sementes ortodoxas, reduzindo uma série de restrições com relação ao tamanho da amostra e condições de armazenamento. A aplicação dessas metodologias a espécies com sementes não ortodoxas, particularmente perenes nativas pouco estudadas, se tornará mais praticável com o avanço dos conhecimentos da estrutura de populações naturais e de plantios tradicionais, por meio de parâmetros genéticos populacionais, relacionamentos entre subpopulações e entre materiais cultivados em diferentes localidades.

O correto seria a representação de todos os alelos contidos nas áreas de ocorrência natural da espécie. Por isso, a estratégia adotada até há pouco tempo era a realização de coletas em diferentes localidades, na expectativa de que as amostras da distribuição geográfica da espécie corresponderiam à estrutura genética de suas populações. No entanto, tem sido observado que nem sempre essa associação é válida.

Na realidade, a estratégia para coleta de germoplasma depende do propósito da coleção, da biologia da espécie, da habilidade de selecionar plantas com características desejáveis durante a amostragem (Dawson et al., 1998) e do grau de dificuldade proporcionado pelo posicionamento geográfico da área de coleta.

Na Bacia Amazônica, em locais pouco habitados e de difícil acesso, são necessários, no mínimo, vinte dias de viagem de barco e exaustivas caminhadas para cobrir um determinado percurso de coleta. Torna-se, assim, quase impossível atingir os objetivos quanto ao número de locais planejados e ao tamanho da amostra teoricamente correto, independente de tratar-se de populações naturais ou plantios em comunidades tradicionais.

Todavia, na coleta de amostras de fruteiras nativas, as informações obtidas de populações locais têm sido decisivas na identificação de plantas superiores para características de qualidade de fruto.

Ao serem definidos os objetivos da coleta, alguns aspectos básicos devem ser considerados, tais como local, época e tipo de material coletado.

i) Local de coleta

Informações sobre as áreas de ocorrência, tanto natural como em plantios em comunidades tradicionais, devem ser obtidas durante o planejamento da coleta. Normalmente, utilizam-se documentos disponíveis em escritórios locais de assistência a produtores, registros em herbários e publicações técnico-científicas. Coletas em áreas de segurança, como reservas ecológicas e indígenas, requerem autorizações especiais com bastante antecedência.

ii) Época da coleta

A época da coleta é um dos fatores mais determinantes do seu sucesso, tanto em relação às condições de acesso ao local como à fenologia da espécie. Na Região Amazônica, o período das cheias dos rios é a época que facilita o acesso de embarcações e transporte do material coletado, além de coincidir com o período reprodutivo da maioria das espécies.

iii) Tipo de material

A coleta de sementes exige atenção em relação ao tempo decorrido entre coleta e a semeadura. Sementes recalcitrantes, ao contrário das ortodoxas, não resistem a transporte por tempo prolongado sem perder viabilidade. A manutenção da semente no próprio fruto coletado tem assegurado a viabilidade por período maior, embora para espécies frutíferas isso signifique uma inconveniente sobrecarga devido ao tamanho e peso dos frutos.

Em espécies de propagação sexuada e assexuada, a conservação pode ser complementada com a coleta de material vegetativo, permitindo a obtenção de informações genéticas sobre a matriz e a respectiva progênie. Também são coletadas plântulas sob a copa das árvores, geralmente quando a disponibilidade de frutos e/ou hastes é limitada.

2. Estratégias de conservação

A conservação *ex-situ* é mais indicada para espécies com biologia reprodutiva e fisiologia de sementes conhecidas por melhor fundamentar a escolha das estratégias de coleta e manutenção do germoplasma. Bancos de sementes são próprios para espécies com sementes ortodoxas, pois não apresentam impedimentos para serem conservadas em câmaras úmidas e facilitam a formação de bancos de germoplasma mais completos. Bancos de plantas *in vivo* e *in vitro* são indicados para espécies com sementes recalcitrantes ou intermediárias por não tolerarem desidratação e armazenamento a baixas temperaturas. Além desses, a criopreservação é apresentada como um método sofisticado de congelamento de tecidos em nitrogênio líquido a temperatura de -196°C .

As diferentes modalidades de conservação *ex-situ* asseguram a preservação da variabilidade genética de muitas espécies, mas apresentam limitações de ordem econômica e biológica que restringem o sucesso absoluto da atividade. Incluem instabilidade genética na conservação por sementes, variação somaclonal na conservação *in vitro*, paralisação de processos biológicos na criopreservação e fatores técnico-administrativos nas coleções *in vivo*, tais como custos operacionais elevados, ocupações de grandes áreas, maior exposição à ocorrência de pragas, doenças e desastres naturais.

Em razão disso, ações complementares de conservação têm sido implementadas para minimizar os riscos de erosão ou modificações genéticas do germoplasma, destacando-se a manutenção de réplicas ou pequenas coleções de trabalho em diferentes instituições e o emprego de mais de um procedimento de conservação. A formação de pequenas coleções institucionais é um recurso bastante utilizado em espécies perenes, com a intenção de compartilhar o ônus da conservação em condições de cultivo. Além disso, reforça a idéia de que a coleta e o manejo de germoplasma perene são importantes se preservados os genes e as combinações genéticas (Sherman, 1988).

Apesar dos avanços alcançados pelas pesquisas com recursos genéticos nos últimos anos, o tamanho ainda restringe a acessibilidade e a utilização da diversidade mantida na maioria das coleções de grande porte. Por isso, coleções nucleares têm sido indicadas como estratégia para estimular o uso de toda a variabilidade genética conservada.

O manejo e o uso das coleções de germoplasma poderiam ser aumentados se o número de acessos geneticamente distintos fosse reduzido a uma coleção nuclear (*core collection*) - conjunto limitado de acessos, que representa, com o mínimo de repetitividade, a diversidade genética da espécie cultivada e de seus parentes silvestres (Frankel, 1984). A amostra deve conter de 5% a 10% da coleção de germoplasma, representar 70% a 80% da variação total da coleção, reunir grupos existentes nas coleções (espécies, subespécies e regiões geográficas, etc.) e selecionar acessos dentro de cada grupo (Brown, 1989a).

Em relação à representação dos alelos, Brown (1989b) considera os acessos como amostras populacionais. Fundamentado no princípio de distribuição dos "alelos neutros", recomenda a representação de 10% do total de acessos para conter alelos comuns localizados, raros localizados, comuns dispersos e raros dispersos. Ressalta ainda o mesmo autor que, para alelos comuns, cada acesso pode ser considerado como uma amostra, ao acaso, da população, incluindo a possibilidade da presença de alelos raros.

O procedimento geral para a organização envolve quatro etapas (Brown & Spillane, 1999):

- definição da coleção a ser representada, reunindo todos os dados relevantes sobre os acessos na coleção e decidir o tamanho do núcleo;
- agrupamento dos acessos em subconjuntos que reflitam as principais categorias genéticas e ecológicas dentro da coleção completa;
- seleção dos acessos para o núcleo, escolha de quantos e quais;
- manejo da coleção nuclear.

No método proposto por Van Hintum (1999), além das etapas principais de definição e formação de grupos, a estratégia para distribuição de acessos nos subgrupos dependerá da informação disponível no grupo e subgrupos, inclusive as de marcadores moleculares. Atualmente, as coleções nucleares refletem a diversidade das coleções, em que algumas são renovadas, algumas representam gênero completo, incluindo espécies selvagens, enquanto outras representam pequena parte do *pool* gênico (Van-Hintum, 2000).

3. Informação e documentação

A identificação correta da origem e registros das informações sobre avaliação e caracterização dos acessos são também elementos importantes para lograr êxito no aproveitamento do germoplasma em programas de melhoramento. As publicações colocadas à disposição dos usuários são, principalmente, catálogos e artigos científicos.

As anotações de controle deveriam incluir um inventário atualizado de acessos, um método rápido de fornecimento de acessos para usuários e um bom sistema de comunicação para coordenar atividades na coleção, manutenção, avaliação e intercâmbio de germoplasma. A capacidade de gestão dos recursos genéticos pode ser ampliada com a organização de bancos de dados, reunindo todas as informações disponíveis sobre passaporte, taxonomia e avaliações de caracteres morfológicos, agronômicos e moleculares.

Pesquisa

As coleções podem ser utilizadas em pesquisas básicas, entretanto a maioria freqüentemente vem sendo empregada em pesquisas aplicadas, envolvendo melhoramento de plantas e animais (Goodman, 1990). Na última década, os avanços nas áreas biométrica e molecular foram decisivos para reforçar a aplicação de abordagem de estrutura populacional como medida de diversidade,

tornando possível o aperfeiçoamento das metodologias de coleta, conservação e organização das informações sobre o germoplasma.

Na realidade, as pesquisas são direcionadas para atender a objetivos específicos na área de conservação e, ao mesmo tempo, fornecer informações sobre a variabilidade genética destinada a programas de melhoramento. A descrição de caracteres agronomicamente úteis é um importante pré-requisito para a utilização efetiva e eficiente de coleções de germoplasma (Duvick, 1984), assim como as análises do padrão de variação das culturas são essenciais para entender a evolução do germoplasma e tornar eficiente o uso da variabilidade avaliada em programas de melhoramento de plantas (Harlan, 1992). Com esses enfoques, os estudos têm-se tornado cada vez mais complementares e, conseqüentemente, potencializado a exploração do germoplasma em programas de pré-melhoramento de espécies selvagens, domesticação e melhoramento de espécies comerciais.

Normalmente, as tomadas de dados são efetuadas durante a avaliação e caracterização de numerosos acessos, com base em caracteres morfo-agronômicos básicos (vegetativos, produtivos e resistência a pragas e doenças) e marcadores isoenzimáticos ou moleculares. O volume de dados gerados é diretamente proporcional à disponibilidade de recursos humanos e financeiros; geralmente, as prioridades são para aqueles caracteres de importância econômica, quando há algum tipo de limitação. Na análise desses dados, procedimentos estatísticos uni e multivariados são empregados, com base em três abordagens: classificação de acessos, análise da diversidade genética e estudo da divergência genética (Moreira et al., 1994).

Numa fase mais direcionada para o melhoramento, ocorre a avaliação criteriosa da adaptação e do rendimento dos acessos selecionados, na qual parâmetros genéticos podem ser estimados. Adicionalmente, pesquisas com marcadores moleculares têm sido aplicadas em estratégias de amostragem, identificação de acessos duplicatas e validação de coleções nucleares selecionadas com base em dados de passaporte, caracteres morfológicos e agrônômicos.

Em princípio, os estudos agrobotânicos e de estrutura de população visando determinar quais amostras reúnem diversidade e características morfológicas importantes na identificação do germoplasma, deveriam anteceder a seleção. No entanto, em espécies perenes nativas pouco exploradas, conservadas em condições experimentais e, ainda, com caracteres pouco conhecidos, os esforços de conservação e seleção de genótipos superiores tendem a ser atividades conjuntas.

Na Amazônia Ocidental, particularmente em algumas coleções de espécies perenes estabelecidas em delineamento experimental, a avaliação e a caracterização do germoplasma têm sido um componente da etapa inicial do programa de melhoramento. Essa estratégia torna eficientes os custos operacionais com tratos culturais de manutenção do germoplasma e abrevia o aproveitamento da variabilidade genética disponível, tanto para seleção de fenótipos superiores como para pesquisas sobre as bases genéticas dos caracteres identificados como de importância econômica.

Utilização

Geralmente, as ações têm sido dirigidas principalmente para a utilização de germoplasma em programas de melhoramento de espécies comerciais, como fonte de variabilidade para caracteres de importância econômica. Apesar disso, a introgressão de alelos vantajosos encontrados em germoplasma selvagem tem sido evitada nos programas de melhoramento, devido à necessidade de eliminação das características desvantajosas que também são transferidas nesse processo. Os parentes selvagens tendem a ser usados em programas de cruzamentos somente como último recurso, embora muitas características valiosas venham sendo introduzidas em variedades modernas, incluindo resistência a pragas e doenças, adaptação, fatores de qualidade e características influenciando a reprodução (Evans, 2000). O pré-melhoramento tem sido apontado como alternativa para a utilização desse germoplasma com a intenção de melhorar algumas características

desejáveis e remover as indesejáveis, antes de sua inclusão num programa de melhoramento mais arrojado.

Não há dúvidas de que as pesquisas com recursos genéticos são cruciais para intensificar a utilização econômica de uma espécie. Contudo, a contribuição da população humana, desde a simples coleta extrativa de frutos em populações naturais até o cultivo desses em sistemas de produção tradicionais, tem sido importante para iniciar a domesticação e incentivar a exploração de novas espécies. Nos processos evolutivos da maioria das espécies, sabe-se que a domesticação prévia antecedeu a agricultura, constituindo as variedades crioulas, que são a base das cultivares atuais (Harlan, 1992). Logo, os benefícios advindos da utilização de espécies vegetais pelo homem são históricos e contínuos.

Na Região Amazônica, a agricultura tradicional migratória é predominantemente caracterizada pela alta diversidade de espécies plantadas nas propriedades de agricultura familiar (Sousa & Sousa, 1999). Essa combinação envolvendo espécies pouco exploradas dificulta a separação conceitual de espécies selvagens e domesticadas. Porém, marca a importante participação do agricultor no processo de conservação e utilização de espécies nativas na alimentação e como medicamento, contribuindo para sua domesticação ainda que a intenção de seleção seja discreta ou ausente.

Economicamente, a domesticação de espécies e sua utilização têm sido movidas principalmente por oportunidades agroindustriais, como ocorreu com as espécies tropicais dendê, seringueira e cacau (Homma, 1996). Recentemente, mudanças nos hábitos da população em relação à qualidade de vida têm incentivado a incorporação de novos produtos vegetais nos mercados nacional e internacional. Isso tem acontecido principalmente com aqueles produtos originados de espécies que agreguem algum benefício nutricional ou ambiental, como vem acontecendo com algumas espécies nativas da Amazônia, especialmente castanha-do-brasil, açaí, guaraná, cupuaçu, camu-camu e medicinais.

Em consequência da dinâmica do mercado consumidor, da globalização econômica e das perspectivas biotecnológicas da agricultura deste século, estrategicamente vem se intensificando o interesse pelos recursos genéticos de espécies com importância atual e potencial, inclusive modelando novos comportamentos de empresas públicas e privadas em relação à propriedade legal do germoplasma. Nesse contexto, há expectativa de que políticas sejam estabelecidas para regulamentar a exploração econômica dos recursos genéticos nativos, sem prejuízo da segurança alimentar das populações tradicionais e de agricultores familiares.

Referências bibliográficas

BROWN, A. H. D. Core collections: a practical approach to genetic resources managements. **Genome**, v. 31, p. 818-824, 1989a.

BROWN, A. H. D. The case for core collections. In: BROWN, A. D. H.; FRANKEL, O.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **The use of plant genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989b. p. 136-156.

DUVICK, D. N. Genetic diversity in major farm crops on the farm and in reserve. **Econ. Botan.**, v.38, p.161-178, 1984.

EVANS, L. T. **Feeding the ten billion**. plants and population grown. Cambridge: Cambridge University Press. 2000. 247 p.

FITZGERALD, P. J. Genetic considerations in the collection and maintenance of germplasm. **Hortscience**, v. 23, n. 1, p. 84-85, 1988.

FRANKEL, O.H. Genetic perspectives of germplasm conservation. In: ARBER, W. K.; PEACOCK, W. I.; STARLINGER, P. (Ed.). **Genetic manipulation: impact on man and society**. Cambridge: Cambridge University Press, 1984. p.161 -170.

GOODMAN, M. M. Genetic and germ plasm stocks worth conserving. **J. Heredity**, v. 81, n. 1, p. 11-16, 1990.

HARLAN, J. R. **Crops and man**. 2 ed. Madison: Crop Science Society of América/American Society of Agronomy, 1992. 284 p.

HOMMA, A. K. O. Extrativismo vegetal e desenvolvimento da Amazônia: conflitos e possibilidades. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 22, 1996, Manaus. **Palestras...** Manaus: Sociedade Brasileira de Ciência de Solo, 1996.

HOYT, E. **Conservação dos parentes silvestres das plantas cultivadas**. CORADIN, L. (Trad.). IBPGR/ IUCN/ WWF/EMBRAPA-CENARGEN, 1992. 52 p.

IBPGR. **Elseviers dictionary of plant genetic resources**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1991. 187 p.

MOORE, J. N. Fruit germplasm preservation and manegement: synopsis of the symposium. **Hortscience**, v. 23, n. 1, p. 75, 1988.

MOREIRA, J. de A. N.; SANTOS, J. W. dos; OLIVEIRA, S. R. de M. **Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma**. Brasília: EMBRAPA-CNPA/EMBRAPA-SPI, 1994. 115 p.

BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C. Implementing core collections principles, procedures, progress, problems and promise. In: **Core-collections-for-today-and-tomorrow**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources Institute, 1999. p. 1-8.

DAWSON, I.; WERE, J.; SOTELO, C.; WEBER, J. C. Algunas recomendaciones para la colección de germoplasma arbóreo. **Agroforesteria en las Americas**, v. 5, n. 19, p. 32-36. 1998.

SHERMAN, W. B. Introductory remarks. **Hortscience**, v. 23, n. 1, p. 50, 1988.

SOUSA, N. R.; SOUSA, G. F. de. Inter-specific diversity of homegardens in central Amazon settlements. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM MULTI-STRATA AGROFORESTRY SYSTEMS WITH PERENNIAL CROPS, 1, 1999, Turrialba. **Proceedings...** Turrialba: CATIE, 1999, p. 208-210.

VAN-HINTUM, T. J. L. The general methodology for creating a core collection. In: **Core-collections-for-today-and-tomorrow**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources Institute, 1999. p. 10-17.

VAN-HINTUM, T. J. L. **The general methodology for creating a core collection**. In: MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY, 90, 2000, Baltimore. Disponível em: <[Http://www.plant.wageningen-ur.nl/cgn](http://www.plant.wageningen-ur.nl/cgn)>.