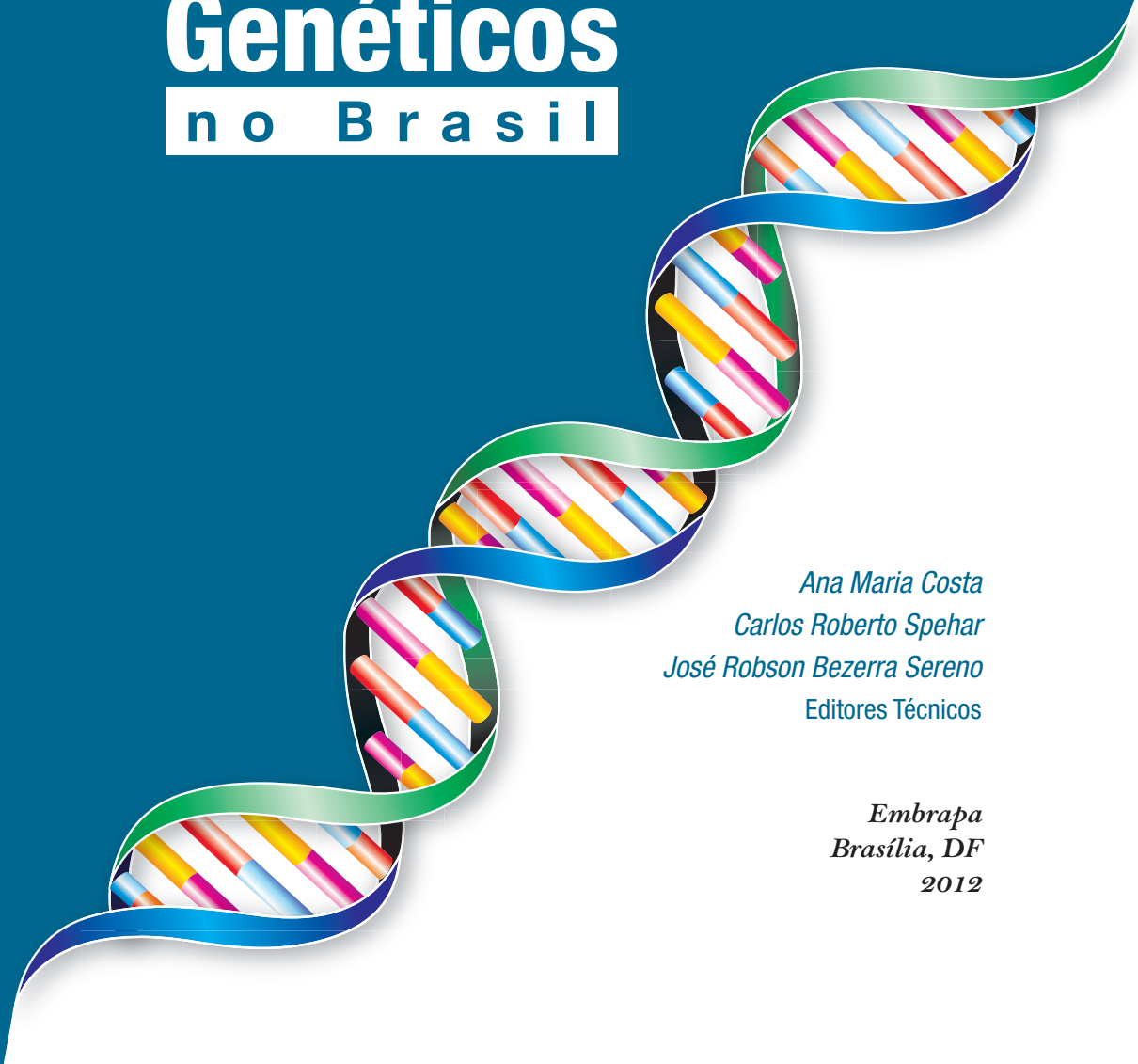
Vire a página

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

Conservação de Recursos Genéticos no Brasil



Ana Maria Costa
Carlos Roberto Spehar
José Robson Bezerra Sereno
Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2012

Embrapa Cerrados
BR 020, Km 18, Rodovia Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970 – Planaltina-DF
Fone (61) 3388-9898 – Fax (61) 3388-9879
www.cpac.embrapa.br
sac@cpac.embrapa.br

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição
Embrapa Cerrados

Comitê de Publicações da Embrapa Cerrados
Presidente: *Claudio Tako Karia*
Secretária-executiva: *Marina de Fátima Vilela*
Secretária: *Maria Edilva Nogueira*

Coordenação editorial
Jussara Flores de Oliveira Arbués

Equipe de revisão
Francisca Elijani do Nascimento
Jussara Flores de Oliveira Arbués

Normalização bibliográfica
Paloma Guimarães Correa de Oliveira
Catalogação na fonte: *Marilaine Schaun Pelufê*

Capa, projeto gráfico e diagramação
Wellington Cavalcanti

1ª edição
E-book (2012)

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Cerrados

C837c Conservação de recursos genéticos no Brasil / Ana Maria Costa, Carlos Roberto Spehar, José Robson Bezerra Sereno, editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2012.

628 p. : iI.

E-book no formato pdf.
ISBN 978-85-7035-037-4

1. Recurso genético. 2. Biodiversidade. 3. Genoma. 4. Brasil. I. Costa, Ana Maria. II. Spehar, Carlos Roberto. III. Sereno, José Robson Bezerra.

CDD 572.86

© Embrapa 2012

Autores

Alexandre Wagner Silva Hilsdorf

Zootecnista, D.Sc.
Professor-Adjunto e Pesquisador da Universidade de Mogi das Cruzes
Av. Dr. Cândido Xavier de Almeida Souza, 200
08780-911 – Mogi das Cruzes, SP
wagner@umc.br

Ana Maria Costa

Engenheira Agrônoma, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Cerrados
BR 020, Km 18, Rodovia Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223, 73310-970 – Planaltina, DF
abarros@cpac.embrapa.br

Andréa Mittelmann

Engenheira Agrônoma, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Gado de Leite
Rua Eugênio do Nascimento, 610, Bairro Dom Bosco
36038-330 – Juiz de Fora, MG
andream@cnpgl.embrapa.br

Antonieta Nassif Salomão
Engenheira Florestal, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Parque Estação Biológica – PqEB, Av. W5 Norte (final)
Caixa Postal 02372, 70770-900 – Brasília, DF
antoniet@cenargen.embrapa.br

Antonio Fernando Caetano Tombolato
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador do Instituto Agronômico de Campinas
Av. Barão de Itapura, 1481
Caixa Postal 28, 13012-970 – Campinas, SP
tombolat@iac.sp.gov.br

Áurea Linhares Martins
Médica Veterinária, M.Sc.
Responsável Técnica do Bioparque Amazônia Crocodilo Safari Zoo
Av. Augusto Corrêa, nº 1, Guamá
66075-110 – Belém, PA
aureamartins@ufpa.br

Bruno Machado Teles Walter
Engenheiro Florestal, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
bwalter@cenargen.embrapa.com.br

Carlos Frederico Martins
Médico Veterinário, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
carlos.frederico@cpac.embrapa.br

Carlos Roberto Spehar
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Professor da Universidade de Brasília
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, FAV, UnB
Caixa Postal 04508, 70910-970 – Brasília, DF
spehar@unb.br

Caroline Marques Castro
Engenheira Agrônoma, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Clima Temperado
Rodovia BR 392, Km 78, 9º Distrito, Monte Bonito
Caixa Postal 403, 96010-971 – Pelotas, RS
caroline.castro@cpact.embrapa.br

Cristiane Macedo Del Rio do Valle
Médica Veterinária, D.Sc.
Wildlife Management Consultoria Veterinária
Rua Matheus Bariani, 300
Jardim Guadalupe
06026-140 – Osasco, SP
www.wlmconsultoria.com.br

Diva Anelie de Araujo Guimarães
Bióloga, D.Sc.
Professora da Universidade Federal do Pará
Rua Augusto Corrêa, n°1
66075-110 – Belém, PA
diva@ufpa.br

Dijalma Barbosa da Silva
Engenheiro Agrônomo, M.Sc
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
dijalma@cenargen.emrapa.br

Edson Junqueira Leite
Engenheiro Florestal, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
eleite@cenargen.embrapa.br

Emiko Kawakami de Resende
Bióloga, D.Sc
Pesquisadora da Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880 – Bairro Nossa Senhora de Fátima
Caixa Postal 109, 79320-900 – Corumbá, MS
Emiko@cpac.embrapa.br

Fábio Gelape Faleiro
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
ffaleiro@cpac.embrapa.br

Francisco Ricardo Ferreira
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
fricardo@cenargen.embrapa.br

Igor Chamon Assumpção Seligmann
Biólogo, M.Sc.
Gerente do Parque Mangal das Garças
Organização Social Pará 2000, Parque Zoológico Mangal das Garças
Boulevard Castilho França S/N, São Braz
66010-020 – Belem, PA
igor@mangalpa.com.br

João Batista Tavares da Silva
Biólogo, D.Sc.
Analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
jtavares@cenargen.embrapa.br

José Augusto Pereira Carneiro Muniz
Médico Veterinário, D.Sc.
Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, Centro Nacional de Primatas. BR 316 Km 07 S/N, Diretoria
Caixa Postal 44, 67030-000 – Ananindeua, PA
japcmuniz@hotmail.com

José Carlos Leite Reis
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Clima Temperado
reis@cpact.embrapa.br

José Francisco Montenegro Valls
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
valls@cenargen.embrapa.br

José Roberto Moreira
Engenheiro Agrônomo, Ph.D.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
jmoreira@cenargen.embrapa.br

José Robson Bezerra Sereno
Médico Veterinário, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Cerrados
sereno@cpac.embrapa.br

Juliano Gomes Pádua
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
jgpadua@cenargen.embrapa.br

Laura Helena Órfão
Zootecnista, D.Sc.
Pesquisadora associada da Universidade de Mogi das Cruzes
Núcleo Integrado de Biotecnologia-NIB
Av. Dr. Cândido Xavier de Almeida e Souza, 200,
Campus Universitário
08780-911 – Mogi das Cruzes, SP
lauraorfao@yahoo.com.br

Leonel Gonçalves Pereira Neto
Engenheiro Agrônomo, M.Sc.
Analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
leonel@cenargen.embrapa.br

Le Pendu Yvonnick
Biólogo, Ph.D.
Professor titular da Universidade Estadual de Santa Cruz,
Departamento de
Rodovia Ilhéus/Itabuna, Km 16, Salobrinho
45662-900 – Santa Cruz, BA
yvonnickuesc@gmail.com

Lídio Coradin
Engenheiro Agrônomo, M.Sc.
Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal (MMA)
Esplanada dos Ministérios, Bloco B, sala 819
70068-900 – Brasília, DF
lcoradin@mma.gov.br

Luciano de Bem Bianchetti
Biólogo, M.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologias
bianchet@cenargen.embrapa.br

Marcos Aparecido Gimenes
Biólogo, D.Sc.
Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
gimenes@cenargen.embrapa.br

Maria Elita Batista de Castro
Bióloga Molecular, D.Sc.
Pesquisadora da Unb e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
elita@cenargen.embrapa.br

Maria Magaly Velloso da Silva Wetzel
Engenheira Agrônoma, D.Sc.
Pesquisadora aposentada da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
magaly.wetzel@gmail.com

Marta Gomes Rodrigues Faiad
Bióloga, M.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
mfaiad@cenargen.embrapa.br

Natalia Inagaki de Albuquerque

Médica Veterinária, D.Sc.

Pesquisadora da Embrapa Amazonia Oriental

Trav. Dr. Eneas Pinheiro, s/nº – Bairro Marco

66095-100 – Belém, PA

natalia@cpatu.embrapa.br

Patrícia Silva Ritschel

Engenheira Agrônoma, D.Sc.

Pesquisadora da Embrapa Uva e Vinho

Rua Livramento, 515

Caixa Postal 130, 95700-000 – Bento Gonçalves, RS

patrícia@cnpuv.embrapa.br

Renato Ferraz de Arruda Veiga

Engenheiro Agrônomo, D.Sc.

Pesquisador do Instituto Agronômico de Campinas

Av. Barão de Itapura, 1481

Caixa Postal 28, 13012-970 – Campinas, SP

veiga@iac.sp.gov.br

Rodrigo Del Rio do Valle

Médico Veterinário, Pós-doutorado

Professor da Universidade Paulista

rdrvalle@hotmail.com

Romari Alejandra Martinez

Bióloga, D.Sc.

Professora titular da Universidade Estadual de Santa Cruz

cebus@yahoo.com

Rubens Onofre Nodari
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Professor da Universidade Federal de Santa Catarina
Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima, Trindade
88040-970, Florianópolis – Santa Catarina
nodari@cca.ufsc.br

Sabrina Isabel C. de Carvalho
Engenheira Agrônoma, M.Sc.
Analista da Embrapa Hortaliças
BR 060, Km 09, Rod. Brasília/Anápolis
Caixa Postal 218, 70359-970 – Brasília, DF
sabrina@cnph.embrapa.br

Sérgio Yoshimitsu Motoike
Engenheiro Agrônomo, D.Sc.
Pesquisador da Universidade Federal de Viçosa
Avenida Peter Henry Rolfs, s/n – Campus Universitário
36570-000 – Viçosa, MG
motoike@ufv.br

Solange C. Barrios Roveri José
Engenheira Agrônoma, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
solangebr@cenargen.embrapa.br

Solange Rocha Monteiro de Andrade
Bióloga, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Cerrados
solange@cpac.embrapa.br

Sueli Corrêa Marques de Mello
Engenheira Agronônoma, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
smello@cenargen.embrapa.br

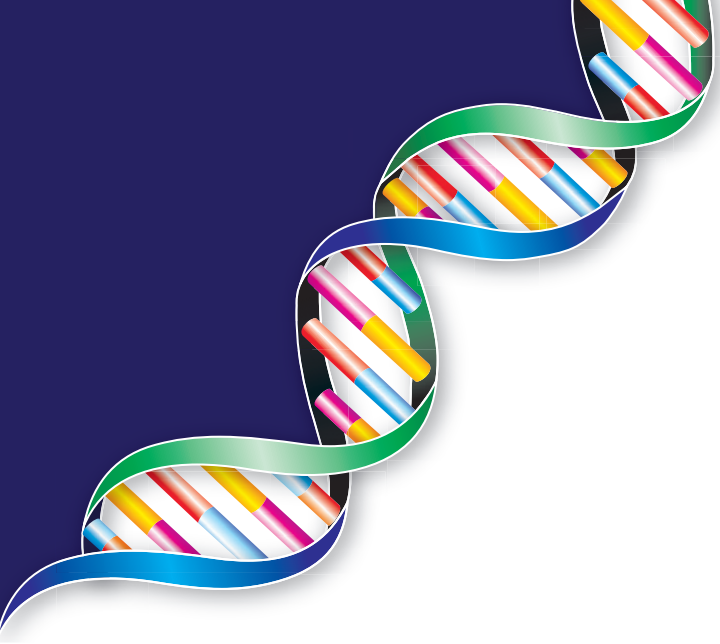
Taciana Barbosa Cavalcanti
Ciências Biológica, D.Sc.
Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
taciana@cenargen.embrapa.br

Ubiratan Piovezan
Zootecnista, D.Sc.
Pesquisador Embrapa Pantanal
Rua 21 de setembro, 1880
79320-900 – Corumbá, MS
piovezan@cpap.embrapa.br

Vicente Pongitory Gifoni Moura (*in memoriam*)

Wilson Barbosa
Biólogo, M.Sc.
Instituto Agronômico de Campinas, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Centro Experimental Central
Av. Barão de Itapura, 1481 – Guanabara
Caixa-Postal 28, 13001-970 – Campinas, SP
wbarbosa@iac.sp.gov.br

Zenilton de Jesus Gayoso Miranda
Artista Plástico, M.Sc.
Analista da Embrapa Informação Tecnológica
Parque Estação Biológica – PqEB, s/n, Av. W3 Norte (final)
70770-901 – Brasília, DF
zenilton.miranda@sct.embrapa.br



Prefácio

O esforço dos editores na estruturação desta obra, dos autores, seus colaboradores e parceiros para abordar o tema da conservação de recursos genéticos no Brasil terá impactos diretos sobre a formação de diferentes profissionais ligados à área biológica. Sua contribuição advirá da crescente participação na pesquisa e na formulação de políticas públicas, tendo como objetivos maiores a manutenção e a expansão da diversidade dos sistemas produtivos.

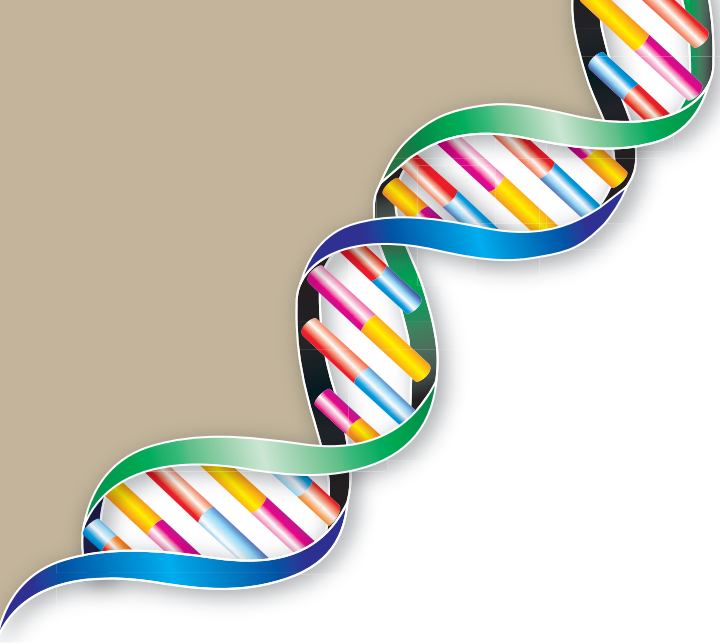
No melhoramento genético, contornando problemas sanitários crescentes, associados à especialização dos cultivos, fica demonstrada a importância da diversidade. Ela somente se materializa com base na organização, descrição e uso eficiente das coleções de acessos em espécies autóctones e exóticas, componentes dos sistemas produtivos brasileiros. Diante dessa perspectiva, espera-se que esta obra contribua para popularidade e aumento da consciência sobre o valor da conservação e seus benefícios para a sociedade.

Se por um lado, o desafio de uma agropecuária em base sólida depende de se contornarem os reveses decorrentes da estreita diversidade

ou da falta de uso de acessos em programas de melhoramento genético. Por outro lado, as atividades agropecuárias, conservadoras pelos riscos inerentes, absorvem, com limitação, novos componentes. Associada à divulgação, fica demonstrado o valor dos recursos genéticos, estimulando seu conhecimento e emprego tanto por parte dos pesquisadores como dos usuários e público em geral. A sensibilização de produtores e outros segmentos da sociedade humana deverão fazer crescer o interesse na manutenção da diversificação.

Finalmente, este trabalho deverá produzir seus frutos, com a esperança de que a pesquisa, o ensino e a produção de tecnologia no Brasil estejam associados à inovação, impulsionada pelo acesso e uso dos recursos genéticos, proporcionando maiores benefícios para a sociedade.

Os editores.



Apresentação

Discorrer sobre a conservação de recursos genéticos é referir-se à caracterização das diferentes espécies de seres vivos, bem como elas se desenvolveram em seus hábitats, refletindo variações e evidenciando sua importância, implicações e o valor para a manutenção da biodiversidade da vida na Terra.

A princípio, todas as formas de vida podem ser consideradas como alvo de conservação por seu papel na composição dos sistemas biológicos e de utilização pela humanidade. Contudo, por definição, são considerados recursos genéticos aqueles componentes da biodiversidade associadas ao ser humano como fontes de alimento, fibras, energia e outras matérias-primas.

Nos sistemas naturais, em que o ambiente e a vida sofrem pouca interferência antrópica, a diversidade das espécies vegetais, animais e de microorganismos apresenta constituição genética própria. Entretanto, em um cenário de alta especialização, há uma tendência de se reduzirem as combinações gênicas, limitando a adaptação frente às ameaças sanitárias e climáticas, com aumento da vulnerabilidade. Em contraste, na am-

pla diversidade intra- e interespecífica reside a capacidade adaptativa do conjunto nos diferentes ambientes e suas variações. Face às tendências de mudança e instabilidade climáticas em nosso planeta, essas variações constituem os recursos genéticos, merecendo destaque no potencial de adaptação e produtivo, lacunas a serem preenchidas pela pesquisa nacional nos próximos anos.

A humanidade enfrenta a ameaça da superpopulação, incrementando a necessidade de intensificar a agropecuária na mesma proporção. Existe uma grande demanda e pressão sobre os recursos naturais se considerarmos as crescentes catástrofes climáticas e ambientais ocorridas recentemente, tais como a contaminação de águas, solo e ar.

Quando somados a expansão urbana e de áreas agrícolas intensificam-se as pressões sobre coberturas vegetais naturais, berços de muitas das espécies domesticadas. Gradualmente, desaparecem as espécies e variedades nos respectivos centros de origem e variabilidade dos reservatórios de genes importantes para a própria humanidade.

A necessidade de produzir alimentos com mais eficiência tem levado à alta especialização com reduzida aplicação da variabilidade genética das espécies nas áreas de produção. Cultivos tradicionais têm sido substituídos por outros altamente produtivos, e com grande uniformidade. São sistemas altamente tecnificados, contudo, de alta fragilidade frente às adversidades naturais.

Esse estreitamento da base genética afeta a todos, assumindo dimensões alarmantes quando se trata de países mega diversos como o Brasil. Portanto, cabe a todos a tentativa de solucionar a delicada equação de prover a humanidade, sem a perda dos recursos genéticos, a fonte de variabilidade.

Esta obra tem como objetivo contribuir à formação acadêmica e avanço tecnológico, com implicações na sociedade. Apresenta um resu-

mo das principais estratégias que têm sido empregadas para conservar os recursos genéticos no Brasil, em que se encontram coleções e acessos, e quais as suas características relevantes. Acreditamos que é por meio da compreensão desses processos que teremos mais profissionais efetivamente capacitados para gerenciar a riqueza biológica que dispomos, a favor da humanidade e da manutenção da vida no planeta.

José Roberto Rodrigues Peres
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Capítulo 1 – Base Genética da Diversidade.....28

Autores: Ana Maria Costa; Carlos Roberto Spehar

Introdução..... 28
Recursos Genéticos..... 31
Germoplasma 32
Material Genético e Ação Gênica..... 34
Base genética da diversidade 40
Modo reprodutivo, ploidia, coleta e conservação..... 51
Identificando a diversidade 56
Considerações Finais..... 58
Referências..... 59

Capítulo 2 – Biodiversidade e Recursos Genéticos.....66

Autores: Carlos Roberto Spehar; Ana Maria Costa

Introdução..... 66
Percepção da Diversidade..... 69
Sistemas Agrícolas e Diversidade 73
Convívio com os Seres Vivos..... 80
Convívio versus agricultura moderna..... 80
Convívio, origem das espécies cultivadas e conservação 83

Necessidade de controle e domesticação 90
Ampliando o conceito de espécies aliadas 91
Interações entre as plantas 94
O Convívio do futuro 95
Considerações Finais 98
Referências 101

Capítulo 3 – Bancos de Germoplasma: importância e organização ..104

Autores: Renato Ferraz de Arruda Veiga; Wilson Barbosa; Antonio Fernando Caetano Tombolato; José Francisco Montenegro Valls

Introdução 104
Importância 105
Organização 106
Histórico 106
Tipos de conservação 109
Curadorias 115
Bancos de Germoplasma no Brasil 120
BAG de plantas 120
BAG de animais 121
BAG de micro-organismos / coleções científicas 122
Problemas Enfrentados pelos Mantenedores 122
Referências 124

Capítulo 4 – Princípios sobre Coleta de Germoplasma Vegetal 126

Autores: Bruno Machado Teles Walter; Taciana Barbosa Cavalcanti; Luciano de Bem Bianchetti

Introdução 126
Razões para a Coleta de Germoplasma 128
Breve Histórico sobre a Coleta de Germoplasma 129
Características das Missões de Coleta 131
Categorias de Espécies a Serem Coletadas 133
Sítios de Coleta 135
Estratégias de Amostragem 137
Espécies cultivadas 138

Espécies silvestres 140
Aspectos Práticos da Coleta de Germoplasma 143
Pré-coleta 143
Coleta (no campo) 149
Amostragem no campo 150
Pós-coleta 152
Referências 154

Capítulo 5 – Conservação de Germoplasma-Semente em Longo Prazo 160

Autores: Maria Magaly Velloso da Silva Wetzel; Dijalma Barbosa da Silva; Antonieta Nassif Salomão; Leonel Gonçalves Pereira Neto; Marta Gomes Rodrigues Faiad

Introdução 160
Conservação de Germoplasma-Semente em Longo Prazo 162
Classificação Fisiológica das Sementes para Fins de Armazenamento 165
Acervo de Recursos Genéticos Vegetais Conservados em Longo Prazo 167
Infraestrutura para a Conservação de Germoplasma-Semente em Longo Prazo 171
Procedimentos para Operacionalização da Coleção de Base 172
Considerações Finais 181
Referências 182

Capítulo 6 – A Genética Molecular Aplicada aos Programas de Conservação e Uso de Recursos Genéticos Vegetais 185

Autor: Fábio Gelape Faleiro

Introdução 185
Principais Técnicas da Genética Molecular 186
Isoenzimas 187
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 188
Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 188
Microssatélites 188

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) 188
Minissatélites 189
Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) 189
Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) 189
Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) 189
PCR-sequencing 189
Marcadores baseados em retrotransposons 190
Marcadores baseados em genômica funcional 190
Princípio da Análise dos Marcadores Genético Moleculares 192
Principais Aplicações dos Marcadores Genético Moleculares nos Programas de Conservação e Uso de Recursos Genéticos 194
Análise da distribuição geográfica da variabilidade genética 195
Desenvolvimento de estratégias de amostragem para coleta de recursos genéticos 196
Análise de acessos duplicados ou redundantes 196
Análise da diversidade genética e frequência gênica populacional 197
Estudos de diversidade genética de acessos subsidiando a escolha de genitores para programas de melhoramento 198
Análise de pureza genética de sementes e contaminação de germoplasma 200
Análises de *fingerprinting* e testes de paternidade 200
Auxílio em trabalhos de classificação botânica e filogenia 203
Composição e validação de coleções nucleares e de trabalho com base em estudos de diversidade genética 204
Obtenção de marcas moleculares associadas a características agronômicas como subsídio para o estudo da diversidade genética funcional 207
Considerações Finais 208
Referências 209
Literatura Consultada 221

Capítulo 7 – Cultura de Tecidos Aplicada à Conservação de Germoplasma.....222

Autores: Sérgio Yoshimitsu Motoike; Solange Rocha Monteiro de Andrade

Introdução.....222
Etapas e Vias de Regeneração in vitro 224
Principais Aplicações da Cultura de Tecidos.....226
Cultura de Tecidos e a Conservação de Recursos Naturais 227
Multiplicação massal 227
Conservação de germoplasma in vitro.....228
Criopreservação 233
Problemas da Conservação in vitro e Perspectivas para o Futuro 238
Referências.....239

Capítulo 8 – Espécies Olerícolas.....245

Autores: Sabrina Isabel C. de Carvalho; Patrícia Silva Ritschel

O que São Espécies Olerícolas 245
Por que Conservar o Germoplasma.....250
Como se Realiza a Conservação.....252
Aspectos Importantes do Manejo de Bancos de Germoplasma de Olerícolas.....255
Desafios enfrentados e soluções para o manejo do banco de germoplasma de hortaliças de propagação vegetativa: o exemplo da batata-doce.....256
Desafios enfrentados e soluções para o manejo do banco de germoplasma de hortaliças autógamas: o exemplo das pimentas e pimentões 259
Bancos de germoplasma de espécies olerícolas mantidos pela Embrapa Hortaliças e outras instituições tradicionais na conservação de germoplasma de hortaliças 265
Referências.....268

Capítulo 9 – Conservação de Germoplasma-Semente de Espécies Leguminosas, Oleaginosas e Fibrosas em Longo Prazo 271

Autores: Maria Magaly Velloso da Silva Wetzel; Solange C. Barrios Roveri José; Marcos Aparecido Gimenes; Juliano Gomes Pádua; Leonel Gonçalves Pereira Neto; Dijalma Barbosa da Silva

Introdução.....271
Coleção de Soja.....272
Coleção de Feijão.....275
Feijoeiro comum 276
Feijão-caupi 280
Coleção de Amendoim.....283
Coleção de Girassol.....286
Coleção de Mamona.....288
Coleção de Algodão.....290
Considerações Finais.....295
Referências.....296

Capítulo 10 – Cereais e Pseudocereais 302

Autor: Carlos Roberto Spehar

Diversidade e Recursos Genéticos em Cereais.....302
Cereais de Polinização Aberta.....304
Milho.....304
Centeio.....307
Milheto 309
Cereais de Autopolinização.....310
Trigo 310
Arroz 312
Cevada 314
Aveia.....315
Sorgo.....315
Espécies Menos Exploradas.....316
Diversidade e Recursos Genéticos em Pseudocereais 317
Quinoa.....318

Amaranto 323
Considerações Finais 329
Referências 331

Capítulo 11 – Conservação ex situ de Forrageiras de Clima Temperado 336

Autores: Andréa Mittelmann; José Carlos Leite Reis; Caroline Marques Castro

Introdução 336
Importância 337
Principais Espécies 339
Número de Acessos 341
Forma de Conservação 346
Considerações Finais 347
Agradecimentos 348
Referências 348

Capítulo 12 – Recursos Genéticos de Espécies Frutíferas 350

Autores: Juliano Gomes Pádua; Francisco Ricardo Ferreira

Introdução 350
Recursos Genéticos de Fruteiras 351
Por que Conservar Recursos Genéticos de Fruteiras? 352
Aspectos Importantes a Serem Considerados 355
Espécies de Fruteiras sob Conservação 358
Abacate (*Persea americana*) 362
Abacaxi (*Ananas comosus* var. comosus) 363
Acerola (*Malpighia emarginata* (= *M. glabra*)) 363
Anonáceas (*Annona* spp.) 364
Banana (*Musa* spp.) 365
Caju (*Anacardium occidentale*) 366
Citros (*Citrus* spp.) 367
Goiaba (*Psidium guajava*) 367
Maçã (*Malus* spp.) 368
Mamão (*Carica papaya*) 369

Manga (*Mangifera indica* L.)....370
Maracujá (*Passiflora* spp.)....371
Pera (*Pyrus* spp.)....372
Pêssego, ameixa e nectarina (*Prunus* spp.)....372
Uva (*Vitis* spp.)....373
Outras frutíferas....374
Referências....375

Capítulo 13 – Princípios e Estratégias para o melhor Aproveitamento dos Recursos Genéticos Florestais....380
Autores: Edson Junqueira Leite; Vicente Pongitory Gifoni Moura (*in memoriam*)

Introdução....380
Princípios de Conservação e Utilização dos Recursos Genéticos Florestais....382
Prospecção....383
Coleta para avaliação....384
Avaliação....385
Conservação....385
Utilização....397
Necessidades de Ação Internacional....398
Clonagem....399
Marcadores Genéticos e Marcadores Específicos (SSRs)....400
Transferência de Primers entre Espécies e Híbridos de Eucaliptos....401
Referências....402

Capítulo 14 – Recursos Genéticos de Plantas Ornamentais no Brasil: desenvolvimento incipiente para um país tão promissor....407
Autores: Luciano de Bem Bianchetti; Zenilton de Jesus Gayoso Miranda

Introdução....407
Conceitos Pertinentes e Diversificação de Uso....408
Diversidade das Plantas Ornamentais....410
O Mercado e o Perfil do Produtor Brasileiro....415

Disponibilidade e Utilização de Variabilidade Genética em Plantas Ornamentais 421
Coleta e Introdução 423
A importação de plantas exóticas em detrimento das plantas autóctones 428
As consequências comerciais dos trabalhos efetuados com base em estoques limitados ou com variabilidade genética limitada 429
Conservação 429
A Pesquisa 445
Decisões Políticas e Novas Tecnologias: dois fatores que fazem diferença 447
Referências 450

Capítulo 15 – Conservação e Manejo ex situ de Animais Silvestres 455

Autores: Natalia Inagaki de Albuquerque; Diva Anelie de Araujo Guimarães; Le Pendu Yvonnick; Áurea Linhares Martins; Romari Alejandra Martinez; José Augusto Pereira Carneiro Muniz; Igor Chamon Assumpção Seligmann; Cristiane Macedo Del Rio do Valle; Rodrigo Del Rio do Valle

O que é Conservação Ex situ ? 456
Zoológicos 457
Aspectos gerais de manejo 458
Reabilitação 460
Educação ambiental 460
Bem-estar Animal 461
Definição 461
Comportamentos indicadores de mal-estar 462
Melhorar o bem-estar do animal em cativeiro 463
Criadouros Conservacionistas 464
Trajetória do pensamento conservacionista no Brasil 464
Legislação atual e a criação da categoria de criadouros conservacionistas 465
Importância dos criadouros conservacionistas no Brasil 467
Criadouros Científicos 468

Legislação....468
Conservação versus saúde pública: o modelo primata não humano....468
Criadouros Comerciais....471
Espécies potenciais para produção....472
Referências....478

Capítulo 16 – Conservação e Manejo de Recursos Genéticos Aquícolas....483

Autores: Alexandre Wagner Silva Hilsdorf; Emiko Kawakami de Resende; Laura Helena Orfão

Motivos para Realizar a Conservação dos Recursos Genéticos Aquícolas....483
A importância dos recursos genéticos nos ambientes aquáticos....488
Como é Feita a Conservação nos Dias de Hoje....492
Aspectos Importantes a Serem Considerados Neste Tipo de Conservação....496
Principais questões para conservação dos recursos genéticos aquicolas....498
Exemplos e Espécies Trabalhadas....502
Considerações Finais....505
Referências....508

Capítulo 17 – Recursos Genéticos Microbianos....514

Autores: Sueli Corrêa Marques de Mello; Maria Elita Batista de Castro; João Batista Tavares da Silva

Introdução....514
Diversidade Microbiana e sua Distribuição Sistemática....516
Bactéria....518
Vírus....519
Fungos....521
Protozoários....523
Nomenclatura Bacteriana e a Importância das Coleções de Culturas....524

Fontes da Diversidade Microbiana 527
Uso dos Microrganismos 528
Produtos originados de fungos 528
Bactérias láticas e probióticos 530
Baculovirus e suas aplicações 532
Protozoários e importância 533
Microrganismos fixadores de nitrogênio 534
Microrganismos biorremediadores 536
Microrganismos agentes de controle biológico 538
Microrganismos em Ambientes Extremos 549
Referências 550

Capítulo 18 – Conceitos de Manejo de Fauna e o Exemplo da Capivara 559

Autores: José Roberto Moreira; Ubiratan Piovesan

Introdução 559
Política de Manejo 560
Princípios de Manejo Sustentável 561
Manejo de População-problema 564
A Capivara como Espécie-problema 567
Manejo de População-problema de Capivara 570
Métodos de Monitoramento Populacional de Capivara 573
Avaliação do Poder de Detecção de Tendências de Parâmetros Populacionais em Programas de Monitoramento 577
Considerações Finais 578
Referências 580

Capítulo 19 – Criopreservação de Espermatozoides do Epidídimo de Animais Domésticos e Silvestres Mortos: uma estratégia para conservação animal ex situ 583

Autor: Carlos Frederico Martins

Referências 590

Glossário 593

1

Base Genética da Diversidade

Ana Maria Costa
Carlos Roberto Spehar

Introdução

A molécula responsável pelas informações genéticas da maioria dos organismos é o DNA (ácido desoxirribonucleico). Equivale aos "hardwares" dos computadores, armazenando uma série de programas, os genes, que, por sua vez, são os responsáveis pela formação, funcionamento e sobrevivência dos indivíduos em diferentes condições ambientais.

Num mesmo indivíduo, quase a totalidade das células carrega em seu DNA a mesma programação, ou seja, a mesma composição e distribuição de genes e regiões não gênicas ao longo da molécula.

O leitor pode estar se perguntando: – Se todas as células de um organismo têm a mesma programação, por que as células vindas dos músculos, rins e fígado são tão diferentes entre si?

Isso acontece porque nem todos os programas da célula estão em funcionando ao mesmo tempo. A combinação de programas abertos faz

com que células cardíacas tenham especialidade e função distintas de outros órgãos, como baço ou rim. Contudo, como todas portam a mesma informação, a célula de baço potencialmente poderia se transformar em célula do coração ou pele se o conjunto de programas ativos fosse modificado para o padrão coração ou pele. Da mesma forma, se o padrão passasse a ser o de uma célula embrionária, a célula iniciaria um processo de divisão celular que resultaria na formação de um embrião e posteriormente de um indivíduo completo, geneticamente idêntico ao organismo doador das células (LEWIN, 2004.). A capacidade de regenerar indivíduos a partir de uma única célula tem auxiliado os programas de conservação de recursos genéticos. O tema será discutido no capítulo "Cultura de Tecidos Aplicada à Conservação de Germoplasma" (confira Capítulo 7, nesta obra).

Outra questão intrigante: em uma célula específica, o que controla a abertura de alguns de seus programas e não outros? Ou, o que determina a abertura da informação genética contida no DNA?

Estímulos do ambiente, seria a resposta. Os operadores do computador celular são os estímulos vindos do exterior. Existem informações contidas no DNA que quase não sofrem influência desses estímulos, expressando suas informações de forma contínua ao longo da vida do organismo, são os genes constitutivos. No entanto, há outras que sofrem uma forte regulação ambiental, seja para estimular ou para bloquear a manifestação do gene (LEWIN, 2004).

Chama-se de **genótipo** a programação genética contida no DNA, e **fenótipo** a manifestação da programação condicionada pelo ambiente.

O DNA, na grande maioria das células, encontra-se associado a proteínas específicas classificadas em duas grandes categorias: as responsáveis por proteger e empacotar o DNA, e as que têm as funções de regular as operações contidas nessa molécula. O termo **cromossomo** é empregado ao conjunto composto pelo DNA associado a essas proteínas.

Dentro de uma mesma espécie, porém, observam-se muitas diferenças entre os indivíduos. Isso acontece porque, apesar de os programas instalados serem os mesmos, existem diferentes versões circulando na população, algumas mais atuais, outras mais antigas. Todos possuem a mesma finalidade, contendo pequenas diferenças que os tornam mais adequados, dependendo da situação. Se esse programa fosse um gene, as versões seriam os alelos. Os alelos surgem por pequenas alterações no material genético, o que significa dizer que os **genes** de uma mesma espécie são os mesmos, mas os **alelos** necessariamente não o são. Em organismos diploides, como o ser humano, cada gene está representado por dois alelos, os quais podem apresentar várias combinações. Isso depende do número de alelos, ou versões, do mesmo gene.

As versões são selecionadas de acordo com o ambiente, podendo ou não coexistir versões modernas com as mais antigas. A multiplicidade de versões dentro da mesma espécie chama-se **variabilidade genética**.

Denomina-se **centro de origem da espécie** o local provável do surgimento de uma espécie, dado pela grande variabilidade genética normalmente observada nesses locais. Mudanças ambientais provocam normalmente alterações na pressão de seleção, e na frequência de determinados alelos na população.

É comum, na história evolucionária das espécies, a migração de populações de indivíduos para outras regiões geográficas. Chamam-se **indivíduos fundadores** àqueles que, por motivos diversos, deslocaram-se dos seus centros de origem para formar novas populações em outros ambientes. Quando ocorre o isolamento reprodutivo do grupo, associado ao surgimento de novos alelos e à pressão do novo ambiente, a nova população ganha características próprias. As características dessas populações dependem da forma reprodutiva da espécie. Quando são alogâmicas (ser humano, milho), o fluxo de alelos é contínuo, porém, nas espécies autógamas, os indivíduos em uma população tendem a apresentar os alelos

em homozigose. O conhecimento da forma reprodutiva, de fundamental importância na amostragem e conservação, é tratado no capítulo "Biodiversidade e Recursos Genéticos" (Confira Capítulo 2, desta obra).

É objetivo deste capítulo apresentar ao leitor as bases moleculares que geram diferenciação populacional, o surgimento de espécies e os conceitos utilizados na conservação de recursos genéticos.

Recursos Genéticos

Recurso genético é todo o material biológico que tem valor econômico para o homem; ou seja, são organismos que apresentam valor de mercado como, por exemplo, os alimentos, os animais de estimação, as plantas e microorganismos utilizados nas indústrias, a madeira utilizada na fabricação de móveis e na construção civil, entre outros.

O conceito de valor econômico é muito subjetivo, pois um organismo com valor ambiental – importante para manter o equilíbrio de um determinado ecossistema – pode não apresentar valor de mercado. Contudo, sua falta ou superpopulação pode gerar pragas, diminuir a produtividade de lavoura por desaparecimento de polinizadores e contribuir para o surgimento de novas doenças pela migração de organismos antes restritos ao ambiente silvestre. Portanto, esse organismo poderia ser considerado um recurso genético a partir do momento em que fosse identificado como estratégico.

Com a possibilidade de se produzir substâncias de interesse para o homem a partir de genes obtidos por engenharia genética, estabeleceu-se o consenso de que todos os organismos constituem recursos genéticos em potencial. Atualmente, prospectam-se genes e compostos de interesse industrial em organismos até mesmo considerados prejudiciais ao homem como cobras, aranhas, escorpiões, carrapatos, insetos venenosos, transmissores de doenças e hematófagos. A título de exemplo, um

dos mais potentes vasodilatadores utilizados no tratamento de cardíacos hoje é produzido a partir de um gene isolado da glândula salivar de um mosquito *anophelino* sugador de sangue.

Se todas as formas de vida são valiosas ao homem, a questão é saber como compatibilizar os interesses imediatos à conservação e à preservação de recursos genéticos. Por exemplo, preservar o mico-leão-dourado e o lobo guará pode ser importante para a natureza, mas pode gerar uma divisão de interesses, quais sejam: manter a vida silvestre ou derrubar a mata para morar, produzir alimentos ou energia (ação antrópica). A triste realidade é que, em primeiro lugar, vêm a sobrevivência e o bem-estar imediato do homem, mesmo que isso custe a vida das gerações futuras. Para preservar os biomas brasileiros, portanto, devem-se criar mecanismos que permitam conhecer melhor a natureza, aprofundando as pesquisas para a exploração em base sustentável. Cabe aos técnicos capacitados demonstrar que é mais vantajoso manter a mata, buscando alternativas de exploração. Trata-se de um grande desafio, que necessitará de uma política pública clara e engajamento de vários setores da pesquisa e extensão rural.

Germoplasma

O termo germoplasma é definido como a base física da herança genética, transmitida de uma geração para outra por meio de células reprodutivas (IBPGR, 1991). Portanto, é o material hereditário, transmitido por meio de gerações, incluindo toda estrutura ou propágulo capaz de regenerar um organismo vivo completo. Dependendo da espécie, são considerados germoplasmas: células, embriões, sementes, óvulos, espermatozoides, pólen, estacas e indivíduo adulto.

Uma única célula pode ser considerada um germoplasma, desde que existam metodologias disponíveis para a regeneração do organismo inteiro. Essa metodologia, conhecida por clonagem, comum em plantas, já

é realidade para os bovinos, ovelhas e outros animais. É vista como uma poderosa ferramenta para a conservação de recursos genéticos, uma das razões pelas quais o Brasil e outros países vêm desenvolvendo a tecnologia.

Em propriedades agropecuárias especializadas na reprodução de matrizes de alto interesse, realiza-se o armazenamento de embriões para posterior implante numa barriga de aluguel. Isto é, outras fêmeas gerarão os indivíduos desejados. Da mesma forma, é possível realizar a fecundação in vitro em algumas espécies animais.

Ainda não existem tecnologias para regenerar a maioria das espécies animais conhecidas a partir de células, fecundação artificial ou embriões. Entretanto, muitos grupos conservacionistas vêm investindo no armazenamento desses germoplasmas potenciais na esperança de um dia ter-se como regenerá-los.

Esse armazenamento deve ser feito em locais apropriados para manter as propriedades proliferativas do material, mantendo as características genéticas originais. Dentro da ótica de conservação, esse procedimento é classificado como banco de germoplasma, como será visto oportunamente.

Ao dar entrada nos bancos ou nas coleções de germoplasma, o material genético recebe uma numeração e cria-se o que se chama de passaporte – ou seja, coleta-se toda informação que possa ser útil na reprodução e uso do material genético, tais como: local, data de coleta e descrição do ambiente onde foi encontrado, características botânicas, agronômicas e moleculares. O conjunto de descritores ecogeográficos, botânicos, agronômicos e genéticos moleculares são denominados dados de passaporte.

Esses dados são importantes ao planejamento de ações de coleta, identificação e conservação, preenchendo lacunas e evitando duplicações. Na análise de diversidade e na organização de mapas de distribuição e frequência das espécies, eles são de importância primordial.

Nas coletas, cada amostra é caracterizada por marcadores visíveis no fenótipo, herdáveis, fáceis de determinar e com expressão consistente através dos ambientes. Na prática, em plantas, os acessos podem ser classificados, pelas cores da flor, do pecíolo, do caule e da pilosidade; pelo tamanho e cor de semente; e pelo formato, coloração e tamanho da panícula. Essas características servem como descritores, auxiliando na identificação e utilização de bancos de genes e na avaliação de integridade em acessos. As listas de descritores, específicas por espécie, são ferramentas, que asseguram a medição pelos mesmos parâmetros.

Os acessos são avaliados por desempenho agronômico, rendimento, estresses bióticos e abióticos – dados importantes aos geneticistas e melhoristas nos programas de geração de variedades. As avaliações podem usar ainda marcadores moleculares que apoiem a identificação de diferenças genéticas de interesse, não detectadas por mensurações mais simples, baseadas no fenótipo. Comumente, todo a conjunto de informação é de responsabilidade do curador. Sua função é aumentar a eficiência na ampliação de variabilidade e na sua conservação e disponibilidade. Dele dependem os programas de melhoramento genético, sejam eles voltados a plantas, microorganismos, fungos ou animais.

Material Genético e Ação Gênica

Em meados do século 19, Gregor Mendel, autor do livro *Experimentos em Hibridação Vegetal*, postulou a existência de fatores transmissíveis pelas gerações, e lançou as bases da genética. Os estudos que se seguiram a partir de seu trabalho consolidaram o conceito e aumentaram a capacidade de interpretar dinâmica em populações de plantas e de animais.

A definição de gene como unidade de herança se tornou referência, explicando a dinâmica e a sobrevivência em seres vivos. Daí desenvolveu-se o conceito de fatores ligados à genética dos indivíduos, expres-

sando-se no seu fenótipo. Inicialmente acreditava-se haver um gene para cada característica fenotípica, que, por sua vez, teria uma série de alelos para codificá-la. Cor de flor em soja, por exemplo, é condicionada por um gene com vários alelos, nos quais variações de roxo são dominantes sobre branco. Cada uma das variações de coloração constitui um alelo do mesmo lócus (IWASHINA et al., 2007).

Com o avanço do conhecimento, verificou-se que as características observáveis eram resultantes, na maioria das vezes, da interação de vários genes, cada um deles com pequeno efeito sobre o fenótipo (característica poligênica).

Um caso particular de interação gênica é a epistasia, que é a restituição do fenótipo selvagem (dominante) pelo cruzamento de dois pais com fenótipo mutante (recessivo). Essa situação é comum quando o fenótipo é resultado do produto final de uma rota de biossíntese. Quando uma das enzimas da via não se expressa, não há o aparecimento do produto final e, portanto, o fenótipo é recessivo. Se o pai e a mãe apresentam mutações em genes diferentes da via, seus fenótipos serão recessivos, mas o casal poderá ter filhos que manifestem o fenótipo selvagem em virtude da complementaridade de genes ativos herdados dos pais (o gene inativo em um está presente no outro).

Em alguns casos, observou-se que um único gene teria a capacidade de interferir na manifestação de várias características (genes de efeito pleiotrópico). O exemplo de coloração de flor em soja é válido também para a pleiotropia. Assim, cor roxa é condicionada por alelo para a produção de antocianina. Essa substância pode aparecer em outras partes da planta. No hipotótilo, a porção do caule abaixo das folhas cotiledonares, quando presente, indica que a planta terá flor roxa. Isso é de particular importância na identificação de híbridos, precocemente, em programas de melhoramento genético. Outras implicações e interações entre loci podem ocorrer, como presença de pigmento e coloração da pubescência

(IWASHINA et al., 2007). A interação gênica é de relevância na expressão de alelos e será tratada mais à frente.

Ainda no começo do século 20, os pesquisadores correlacionaram as características genéticas aos cromossomos das células, iniciando-se a ciência denominada de citogenética. Verificou-se que cada espécie possui um número característico de cromossomos com formatos peculiares, em função da posição do centrômero. Esse é o ponto a partir do qual os cromossomos são movimentados na divisão celular.

Dependendo da espécie, as células podem conter um ou mais cromossomos, que pode estar presente em cópia única ou em múltiplas cópias. Quando a espécie apresenta apenas uma cópia de cada cromossomo por célula, diz-se que a espécie é haploide. Quando existe mais de uma cópia de cada cromossomo, a espécie será classificada de acordo com o número de cópias presentes. Sendo chamadas de diploides, quando existem dois lotes hapoides por célula; triploides, quando existem três lotes haplóides; tretaploide, quando existem quatro lotes e assim sucessivamente. Como exemplos de plantas poliploides, têm-se o trigo, a aveia, o centeio, a cevada, o algodão, o kenaf, a soja, a batata, a mandioca (SPEHAR; COSTA, 2008).

As células somáticas dos organismos pluricelulares, em geral, são diploides; haploides suas células germinativas; e, em alguns tecidos, triploides, como no endosperma de milho. Em plantas, porém, é relativamente comum observar-se espécies com diferentes ploidias. Essas modificações de ploidias podem decorrer de problemas ocorridos na meiose ou, como veremos mais adiante, resultantes da transferência de genomas inteiros por cruzamento interespecífico (haloploidia).

A palavra "genoma" foi cunhada por Hans Winkler em 1920 e associa a ideia de "gene" aos "cromossomos". O termo refere-se ao lote cromossômico haploide de uma célula e compreende também o material haploide das organelas portadoras de material genético (mitocôndria e

cloroplasto). Na grande maioria dos eucariotos, somente o óvulo contribui com a herança mitocondrial.

Os estudos citogenéticos verificaram que os genes ocupam um espaço físico no cromossomo que é próprio de cada espécie. Denominou-se de **lócus gênico** ao endereço do gene no cromossomo.

Até meados no século 20, acreditava-se que seriam proteínas contidas nos cromossomos as responsáveis pelas informações genéticas, o que foi desmentido por Áveri e colaboradores, que comprovaram que a molécula responsável por codificar as informações genéticas era o ácido desoxirribonucleico, mais conhecido pela sigla inglesa DNA (desoxiribonucleic acid). A partir dessa informação, intensificaram-se os estudos do DNA, que culminaram pela elucidação da sua estrutura. Watson e Crick (1953), baseados nos estudos de cristalografia de Franklin e Wilkins e composição de bases nitrogenadas de Chargaf, apresentaram o DNA como uma dupla hélice invertida e complementar pareada por pontes de hidrogênio. O DNA é capaz de gerar cópias de si mesmo por mecanismo de replicação semiconservativo. Essa descoberta abriu perspectiva para o início da Biologia Molecular. Por estudos com microorganismos, descobriu-se que cada gene é capaz de codificar um RNA (ácido ribonucleico mensageiro – mRNA), que, por sua vez, codifica a sequência de aminoácidos em cadeia polipeptídica.

O conceito de gene evoluiu significativamente com o avanço do conhecimento. Por exemplo, verificou-se que os genes eucarióticos apresentam segmentos de DNA que não aparecem no RNA codificado. Denominam-se **íntrons** os segmentos removidos do RNA e **éxons** os que permanecem. Hoje se sabe que muitos genes podem gerar mais de um RNA mensageiro em razão da remoção diferencial desses íntrons. Consequentemente, um gene pode gerar mais de uma cadeia polipeptídica conforme o padrão das enzimas responsáveis pelo processo no momento da maturação dos RNAs (LEWIN, 2004).

O dogma central do código genético já sofreu significativas alterações. Depois da descoberta de organismos com genoma de RNA, no qual a transcriptase reversa usa RNA como molde para a síntese de DNA, ficou claro que o inverso pode ocorrer. Verificou-se também que uma proteína poderia ser composta por uma ou mais cadeias polipeptídicas codificadas por genes localizados em partes diferentes do genoma, portanto substitui-se o termo "proteína" pela expressão "cadeia polipeptídica" (LEWIN, 2004).

O conhecimento acumulado pelos estudos moleculares permitiu o desenvolvimento da Engenharia Genética. Hoje é possível modificar, transferir e (ou) expressar genes de organismos em outros (Organismos Geneticamente Modificados – OGM), gerando novos alelos, ou novos genes. O que vem permitindo disponibilizar medicamentos e produtos a menores custos, como a insulina, hormônio de crescimento e vacinas, e aumentar a variabilidade genética de algumas espécies para a melhoria de aspectos agronômicos.

Uma das técnicas desenvolvidas pela engenharia genética foi a do sequenciamento de genomas. Sequênciar um genoma significa ler a ordem das bases nitrogenadas na fita do DNA do lote haploide do organismo, permitindo assim decifrar o programa contido nos cromossomos e nos genes (LEWIN, 2004).

O primeiro eucarionte com genoma sequenciado foi o do fungo *Saccharomyces cerevisae*, com 13 milhões de pares de bases nitrogenadas (pb) (GOFFEAU et al., 1996). Nos anos seguintes, os avanços continuaram e o primeiro animal a ter seu material genético sequenciado foi o nematódeo *Caenorhabditis elegans*, com 100 milhões pb (THE C. ELEGANS SEQUENCING CONSORTIUM, 1998), e a primeira planta a *Arabidopsis thaliana*, com 157 milhões de pb (THE *ARABIDOPSIS* GENOME INITIATIVE, 2000).

A ideia de sequenciamento do genoma humano começou a ser discutida por volta de 1985 e o primeiro rascunho da sequência nucleotí-

dica do genoma humano saiu em 2001 (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001; VENTER et al., 2001). Embora "o sequenciamento completo" de diversos genomas tenha sido divulgado, incluindo o genoma humano, muitas incorreções ainda existem, principalmente relacionadas ao correto posicionamento no genoma de determinados segmentos sequenciados. O correto arranjo e posicionamento de inúmeras sequências repetitivas de DNA representa ainda um desafio para os sistemas atuais de "montagem" da sequência nucleotídica do genoma (COSTA; MARTINS, 2010).

Em consequência do Projeto Genoma, sabe-se que apenas 3% do material genético haploide de uma célula mamífera é composto por sequências que codificam para cadeias polipeptídicas. O restante compreende as chamadas regiões não codantes, nas quais se distribuem as diversas repetições, de origem não viral ou viral. Essas regiões são agrupadas genericamente em satélites, minissatélites, microssatélites, telômeros, sequências repetitivas curtas, entre elas Sines, ALU e MIR, e longas, tais como Lines, L1 e L2 LTR (LEWEN, 1994; BERNARDI, 1995; KAZAZIAN; MORAN, 1998; INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001; KIM et al., 2004; HAN, et al., 2007). Nos grupos de sequências repetitivas curtas e longas, encontram-se os elementos transponíveis (elementos móveis), os íntrons e os provírus tanto de origem viral como retroviral (revisto em BERNARDI, 1995; FAWCETT, et al., 2006; HAN et al., 2007). Essas sequências repetitivas são utilizadas para caracterizar e identificar o material genético. Por exemplo, um trabalho pioneiro com plantas é a sequência do genoma em arroz (GOFF et al., 2002). As informações geradas tornaram possível conhecer o genoma em detalhes estratégicos, permitindo também identificar marcadores do DNA que auxiliem nos programas de melhoramento de outras de outras espécies correlacionadas (COSTA et al., 2010a; COSTA et al., 2010b).

Gradualmente, desvenda-se o segredo contido nos genomas, proporcionando a possibilidade gerar novos genótipos e agilizar a seleção e melhoramento genético animal e vegetal.

Base genética da diversidade

Diversidade genética e variabilidade genética

Dois conceitos comumente empregados na conservação de recursos genéticos são os de diversidade e variabilidade. Apesar de aparentemente semelhantes, diferem em conceito, como será visto a seguir.

Diversidade genética – refere-se ao número de espécies diferentes que ocupam um determinado local. Portanto, é baixa quando existe um número pequeno de espécies habitantes, mesmo que densamente povoada. O contrário ocorre em uma área que contém número elevado de espécies diferentes.

Nos ambientes agrícolas de monocultivo, a diversidade genética é normalmente baixa, e restringe-se a diversidade das plantas invasoras à cultura, às quais se poderia chamar mais apropriadamente de coadjuvantes.

Variabilidade genética – refere-se à quantidade de indivíduos geneticamente diferentes pertencentes à mesma espécie. Uma espécie apresenta baixa variabilidade quando as informações contidas nos cromossomos entre os indivíduos da mesma espécie são muito semelhantes, ou existem poucas variações alélicas nos diferentes genes. O inverso poderia ser dito para o conceito de alta variabilidade genética.

As variações alélicas são extremamente importantes para garantir a sobrevivência de uma espécie. Quanto maior a variabilidade, maior a plasticidade de ajustar-se a mudanças nas pressões ambientais. Quando o material genético é muito uniforme, os organismos se reagem de forma muito semelhante às modificações do meio. Por exemplo, a inexistência,

em determinada população, de alelos condicionantes de resistência à seca pode ocasionar o desaparecimento da espécie, se por ventura ocorrer esse fenômeno.

As plantas cultivadas ou não cultivadas apresentam variabilidade genética. A título de exemplo, a quinoa e o amaranto (*A. caudatus*), ambos de origem andina e paleo-halotetraplódies, apresentam variabilidade impressionante, fruto do cultivo em diferentes ambientes por onde a civilização inca se dispersou (SPEHAR; SANTOS, 2002; SPEHAR, 2007a; SPEHAR, 2007b). Isso equivale a dizer que, na convivência, as diferentes combinações que interessavam aos agricultores eram selecionadas para compor novas populações. Da mesma forma, estudos sobre morfologia das plantas coadjuvantes nessas culturas mostram haver variabilidade genética, expressa por diferenças em coloração de caule e da flor, hábito de crescimento, presença ou ausência de pubescência, acamamento, deiscência das sementes e taxa de germinação (inversamente proporcional à dormência). Essas observações têm sido decisivas no processo de domesticação.

Aqui vale uma comparação entre a seleção natural dessas espécies e a que o homem faz. Na primeira, indivíduos com maior adaptabilidade a fatores ambientais como estresse nutricional, hídrico, de acidez e que produzem sementes em maior quantidade deixam maior número de descendentes. Assim, após gerações, a população original não será mais encontrada. Isso tem sido amplamente estudado nas plantas (HARLAN, 1976; SPEHAR, 2007a). Nas domesticadas, que dependem do homem, as diferentes combinações são mantidas por caracteres de interesse, como rendimento, tolerância à seca, resistência a doenças, ainda que outros relativos à sobrevivência não as favoreçam. Portanto, por interferência humana, a variabilidade é aumentada.

Origem da variabilidade e diversidade genética

Não existem mecanismos naturais conhecidos capazes de gerar longos trechos de novas sequências de DNA. Portanto, a matéria-prima para

o surgimento de novos alelos, genes e estruturas genômicas vem dos DNAs pré-existentes (Figura 1).

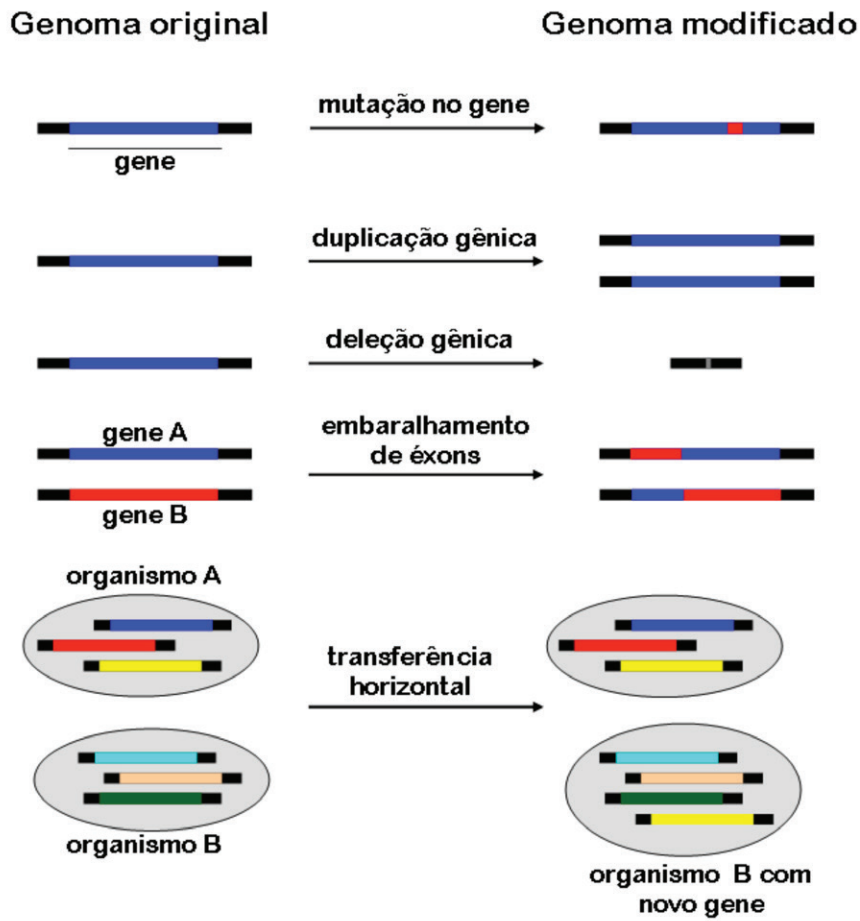


Figura 1. Principais mecanismos de modificações que levam a evolução do genoma. Fonte: Costa e Martins (2010).

1. Mutação intragênica, quando um gene de expressão conhecida pode sofrer alterações na sua sequência de DNA produzindo uma nova forma gênica.

2. Embaralhamento de sequências de DNA por recombinação, quando dois ou mais segmentos de DNA sofrem quebras e reorganização, de forma a produzir quimeras formadas por segmentos de DNA que originalmente pertenciam regiões diferentes.
3. Transferência horizontal, quando um segmento de DNA ou mesmo um genoma inteiro pode ser transferido de uma célula para outra da mesma espécie ou de uma espécie diferente. Esse processo é oposto à transferência vertical, dos pais para a progênie.
4. Duplicação, situação em que um gene pode ser duplicado de forma a criar uma segunda cópia dentro de uma mesma célula.

Ainda que esses mecanismos produzam novidades importantes para a evolução do genoma, outros eventos como deleções de genes e segmentos de DNA produzem mudanças no genoma. Alguns mecanismos representativos para a evolução do genoma são apresentados a seguir.

Mutação intragênica

Entende-se por mutação as alterações no material genético normalmente não detectáveis pelos métodos de citogenética convencional (bandeamento cromossômico). Em geral, envolvem uma a algumas centenas de bases do DNA, sendo as modificações mais comuns: (1) substituição de base nitrogenada – quando uma base do DNA é trocada ou convertida por outra; (2) deleção – quando ocorre a perda de uma ou mais bases nitrogenadas no segmento de DNA; (3) duplicação – quando uma ou mais bases são duplicadas; (4) inserção – quando ocorre a entrada de um segmento de DNA no cromossomo; (5) inversão – quando um segmento de DNA muda a sua orientação na dupla fita.

Essas modificações podem ocorrem em regiões que codificam genes (codantes) ou não codantes do genoma. Quando acontecem dentro de um lócus gênico, tornam-se detectáveis pela possibilidade de mudar

os níveis de expressão ou a proteína codificada (LEWIN, 2004; BALL et al., 2005).

As mutações que afetam os níveis de expressão normalmente estão relacionadas à criação ou à modificação de sítios regulatórios no lócus. Um exemplo de mutação, com surgimento de sitos em que a expressão gênica ocorreu durante o processo de formação da família gênica da globina. Essa família surgiu após sucessivas duplicações que, após sofrer efeito ambiental, acumularam mutações diversas. Algumas se tornaram inativas, enquanto outras se especializaram na expressão de duas isoformas de globina. Uma das enzimas é específica no transporte de oxigênio na fase fetal, enquanto a outra, na fase de respiração pulmonar. O gene fetal perde a expressão de transcrição, de tal forma que o indivíduo nasce e passa a respirar com os pulmões (JOHNSON et al., 2006).

As mutações na região codante podem ser silenciosas – apesar de presentes, não modificam a sequência da proteína – ou expressivas. A segunda categoria pode ser dividida em dois grupos: (a) a das mutações que modificam a posição dos aminoácidos na proteína, mas não a sua função; e (b) aquelas que modificam a proteína e sua função (LEWIN, 2004).

Embaralhamento de segmentos de DNA

Basicamente existem três mecanismos moleculares que resultam no embaralhamento de sequências de DNA:

1. Recombinação homóloga, também conhecida como crossing-over, em que ocorrem trocas de material genético entre os cromossomos homólogos.
2. Recombinação sítio específica, em que regiões repetidas dentro do cromossomo ou entre cromossomos servem de alvo para mediar o rearranjo.
3. Recombinação não homóloga, rearranjo envolvendo regiões sem aparente similaridade de sequências.

A recombinação pode promover a duplicação ou perda de segmentos cromossômicos, a quebra e a transferência de segmentos de DNA de um cromossomo para outro ou dentro do mesmo cromossomo (translocação), ou inversão da orientação do segmento do DNA no cromossomo.

Essas recombinações podem ou não acontecer em regiões codificadoras de genes, contudo as alterações fenotípicas são mais evidentes nas regiões gênicas. A recombinação dentro um íntron ou exon permite rearranjos de genes que podem assumir novas funções. Esse mecanismo de recombinação de éxons é chamado de embaralhamento de éxons (*exon shuffling*). O grande número de exemplos de proteínas criadas por embaralhamento de éxons suporta o papel desse mecanismo genético na origem de novidades genéticas (KOLKMAN; STEMMER, 2001).

As enzimas envolvidas no processo de coagulação sanguínea e fibrinólise representam um bom exemplo de uma família multigênica que evoluiu por embaralhamento de éxons. Análises comparativas entre essas proteases e arque-serino proteases, como as tripsinas e quimotripsinas, mostraram a presença de uma longa extensão N-terminal. Essa consiste de uma série de domínios com funções bem definidas, como reconhecimento do substrato, ligação a fosfolipídios de membrana ou interação com cofatores proteicos. A cauda N-terminal inclui domínios EGF-*like*, domínios Gla, domínios fibronectina tipo I e tipo II, domínios *kringle* e domínios *apple*. A observação de que esses domínios são também encontrados em outras proteínas não relacionadas, como apolipoproteína A (*kringle* domínios), fibronectina (domínios fibronectina tipo I e tipo II) e receptores de proteínas de baixo peso molecular (domínios EGF-*like*), demonstra a possibilidade de que as regiões não catalíticas das proteases homeostáticas tenham sido reunidas a partir de domínios individuais por embaralhamento de éxons (KOLKMAN; STEMMER, 2001). De acordo com Patthy (1985), a diversidade de regiões N-terminal surgiu por inserção de domínios individuais entre o peptídeo sinal e o domínio serino-protease de um gene ancestral tripsina-*like*, seguido de duplicação em sequência e troca de domínios.

Transferência horizontal de genes

O conceito clássico de evolução supõe que todos os organismos tenham um ancestral comum, e que a diversidade genética seja decorrente das mutações, recombinações e seleção natural ocorridas ao longo dos milênios. De acordo com Darwin, uma espécie transfere, verticalmente, a herança genética contida em seu genoma para a sua progênie. A diversidade e a variabilidade decorrem unicamente do acúmulo de mutações e rearranjos nos genomas.

Até recentemente, acreditava-se que uma espécie assim diferenciada perderia, para sempre, a capacidade de transmitir, horizontalmente, sequências gênicas para outras espécies. Entretanto, com o advento da era genômica, verificou-se que a diversidade genética é, em grande parte, promovida pela aquisição de DNAs exógenos, fusão de genomas seguida ou não de rearranjos no material genético híbrido (HACKER; KAPER, 2000; GOGARTEN, et al., 2002; KATZ, 2002; KURLAND et al., 2003; CHOI; KIM, 2007; GRINDLEY et al., 2006; MARRI et al., 2007; POPSTOVA; GOGARTEN, 2007).

Nos genomas dos mamíferos, grande parte do material genético compõe-se por segmentos de DNA repetitivos adquiridos pela integração de vírus, retrovírus e elementos transponíveis. Essas sequências, quando ativas, podem mobilizar segmentos do genoma tanto para outras células como para outros organismos, não necessariamente da mesma espécie (LEWIN, 2004; KIM, et. al., 2004; FAWCETT et al., 2006; HAN et al., 2007).

Todos os segmentos de DNA são potencialmente capazes de serem transferidos de um genoma a outro independente da participação de vírus, retrovírus ou outra partícula carreadora de material genético (LEWIN, 2004, LAWRENCE; HENDRICKSON, 2003). Desde que haja abundância de DNA no ambiente extracelular ou no citoplasma, pode ocorrer absorção de segmentos e sua incorporação ao genoma. Esse fe-

nômeno é comum às células procarióticas e eucarióticas e vem sendo explorado em muitos estudos da biologia molecular e engenharia genética (LEWIN, 2004). Apesar de ser um fenômeno natural sabidamente muito comum nos estudos laboratoriais, o impacto da transferência horizontal na evolução dos genomas eucarióticos ainda é pouco estudado (RUJAN; MARTIN, 2001; STIBITZ et al., 2000; KATZ, 2002).

Sabe-se hoje que muitos genes nucleares tiveram origem nas organelas e em seus endosimbiontes (RUJAN; MARTIN, 2001, KATZ, 2002). A análise do genoma de *Arabidopsis thaliana* indica que 400-2.200 genes da planta foram herdados de cianobactérias (RUJAN; MARTIN, 2001); da mesma forma, em *Pyrenomonas helgolandii* – uma alga criptófita – a análise genealógica de dois grupos gênicos das actinas indicou que um deles provém da transferência gênica de uma alga vermelha simbionte (STIBITZ et al., 2000; KATZ, 2002).

A transferência horizontal não se restringe apenas à transferência de fragmentos de material genético de uma célula para outra. Eventualmente genomas inteiros são fundidos gerando-se um organismo híbrido que pode ou não ser viável e gerar descendentes férteis. Esse fenômeno ocorre tanto em procariotos por meio de conjugação interespecífica, como em eucariotos (RAVEL et al., 2000). Em plantas, são transferidos genomas inteiros por fecundação cruzada. A atemoia é um exemplo desse fenômeno e resulta do cruzamento entre *Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L (NEVES et al., 2003; MELO et al., 2002). Em mamíferos, apesar de mais raro, existem relatos de cruzamentos interespecíficos, alguns aproveitados comercialmente, como no exemplo do cruzamento entre porco e javali (Sus X *Sus scrofa scrofa*), resultando no javaporco, animal servido como iguaria em muitos centros urbanos (LUI,-J-F, 2000).

A incorporação do DNA exógeno pela célula receptora pode ser definitiva ou transiente. A estabilidade da transferência dependerá do tipo e da estrutura genética do material transferido, da capacidade

de expressão de produtos tóxicos, dos locais da inserção no genoma, dos mecanismos de salvaguarda do DNA e da atuação de barreiras reprodutivas (LEACH; STAHL, 1983; WYMAN, et al., 1985; WYMAN et al., 1986; em MEIMA et al., 1997; STRADER; HOWELL, 1997; SONG et al., 2001; KUPRINA et al., 2003; KURLAND et al., 2003; LEWIN, 2004,; BACOLLA et al., 2004; LAN; MUGUIRA, 2005; WOJCIECHOWSKA et al., 2005; GRINDLEY et al., 2006, WANG et al., 2006; WOJCIECHOWSKA et al., 2006; DU et al., 2007; MARRI et al., 2007; WELLS, 2007).

A transferência horizontal pode ocasionar instabilidade genética na célula receptora, gerando rearranjos variados. Após a integração, são frequentes os relatos de duplicações, translocações, ou deleções, envolvendo pequenos ou grandes segmentos cromossômicos gerando novas combinações genômicas (WILKIE; PALMITER, 1987; COVARRUBIAS et al., 1986; KUPRINA et al., 2003; KIM et. al., 2004; GRINDLEY et al., 2006; DU et al., 2007; HAN et. al., 2007). Essas ocorrências têm contribuído para o surgimento de novas combinações genômicas nos três grandes ramos filogenéticos Archea, Bacteria e Eukarya (HACKER; KAPER, 2000; KATZ, 2002; GOGARTEN et al., 2002; CHOI; KIM, 2007; MARRI et al., 2007; POPSTOVA; GOGARTEN, 2007).

Em termos evolutivos, a grande maioria das novas combinações resultantes desse fluxo gênico seria neutra (GOGARTEN et al., 2005; THOMPSON et al., 2005). Contudo, é inegável a importância do fenômeno na adaptação das espécies a nichos ecológicos específicos, conforme indicam os estudos filogenéticos de determinados grupamentos proteicos (HACKER; KAPER, 2000; KATZ, 2002; GOGARTEN, et al., 2002; MARRI et al., 2007).

Acredita-se que o impacto da transferência horizontal seja maior do que o estimado em função dos métodos atuais de detecção (KATZ, 2002; KURLAND et al., 2003; AZAD; LAWRENCE, 2005; POPSTOVA;

GOGARTEN, 2007). Estudos recentes empregando modelagem computacional indicam que a taxa de transferência deva ser maior do que a estimada pelos métodos atuais (CHOI; KIM, 2007; POPSTOVA; GOGARTEN, 2007).

Duplicação gênica

Evidências sobre duplicação gênica e seu papel na origem de novidades genéticas vêm sendo descritas há muito tempo. Contudo, a ideia da duplicação gênica como força motriz do processo evolutivo foi popularizada pela publicação do livro "Evolution by Gene Duplication" de Susumu Ohno em 1970. No entanto, somente a partir da década de 1990, com a disponibilização de um grande número de genomas completamente sequenciados é que se tornou possível um exame claro dos padrões de duplicação e como atuavam modificando a estruturação dos genomas. Os mecanismos precisos dos eventos de duplicação são diversos e podem envolver *crossing over* desigual, retrotransposição, aneuploidia e poliploidia. Esses mecanismos podem levar a duplicações de pequenos segmentos de genes, genes inteiros, blocos de genes, cromossomos ou mesmo genomas inteiros. Acredita-se que as duplicações gênicas forneceram as condições necessárias para as principais transições evolutivas, incluindo a evolução da multicelularidade, da simetria bilateral e da evolução dos vertebrados (SIDOW, 1996; HOLLAND, 1999; LUNDIN, 1999; PATEL; PRINCE 2000).

Uma vez duplicado, um gene pode estar sujeito a três destinos: (i) não-funcionalização, em que uma das duas cópias do gene degenera em um pseudogene que pode ser perdido do genoma; (ii) subfuncionalização, que consiste na divisão das funções originais do gene ancestral entre as duas cópias gênicas duplicadas; (iii) neofuncionalização, em que a cópia duplicada assume uma nova função (ZHANG, 2003). A duplicação permite que novas cópias do gene assumam funções mais especializadas ou mesmo possibilita a origem de novos genes com funções totalmente distintas dos originais. Os genes duplicados são denominados de pará-

logos e formam uma família multigênica. A maior família multigênica de *D. melanogaster* é a família codificante das tripsinas que possui 111 membros, enquanto a maior família de mamíferos codifica receptores olfatórios e possui 1.000 membros (GU et al., 2002; MOMBAERTS, 2001; ZHANG; FIRESTEIN, 2002).

Um bom exemplo de duplicação de genes e de grupos gênicos é representado pelas famílias gênicas envolvidas no controle do desenvolvimento (genes *Hox*). Uma dessas famílias é representada peles genes homeóticos que foram muito bem caracterizados em *D. melanogaster* e codificam fatores transcricionais que, possivelmente, estão envolvidos no controle do desenvolvimento de todos os animais (MARTINS; COSTA, (2010).

Dados recentes envolvendo análise de genomas completamente sequenciados de peixes Actinopterigii (*zebrafish*, *medaka* e duas espécies de *pufferfish*) mostraram que as espécies apresentam oito clusters de genes *Hox*. Esses clusters adicionais presentes resultam de um terceiro evento de duplicação genômica que ocorreu exclusivamente nos ancestrais dos actinopterigii (HOEGG; MEYER, 2005). Dessa forma, a análise da família multigênica *Hox* sugere a ocorrência de dois eventos de duplicação cromossômica (provavelmente duplicação genômica total) antes da divergência entre os peixes teleósteos (Actinopterigii) e tetrápoda (Sarcopterigii), e um terceiro evento de duplicação antes da radiação dos peixes teleósteos (AMORES et al., 1998). A duplicação gênica produz genes com novas funções, acreditando-se que os eventos de duplicação dos genes *Hox* tiveram papel fundamental na radiação que levou a ampla diversidade de peixes teleósteos encontrados atualmente.

O exemplo reflete o modelo clássico de origem de novos membros de uma família multigênica por duplicação. No entanto novos genes podem surgir a partir da duplicação de genes ou sequências de DNA e assumir uma função específica e completamente distinta do original. Um exemplo disso está relacionado aos genes codificantes das proteínas an-

ticongelantes presentes em peixes antárticos da subordem Nothonioidei. Essas proteínas, chamadas de AFGP (*AntiFreeze GlycoProteins*), impedem que esses peixes congelem a baixas temperaturas. O primeiro gene AFGP foi caracterizado na espécie *Notothenia coriiceps* e possui 46 moléculas codificantes de AFGP ligadas em tandem. Na espécie *Dissostichus mawsoni*, foi verificado que o gene AFGP deriva de um gene codificador do tripsinogênio pancreático (CHEN et al., 1997a; CHEN et al., 1997b). A relação entre esses dois genes (AFGP e tripsinogênio) não pode ser explicada simplesmente por duplicação e divergência ou embaralhamento de éxons, comuns na origem de muitos genes. Ao invés disso, a porção do gene AFGP que codifica um domínio *ice*-ligante deriva do recrutamento e interação de uma pequena região entre o primeiro íntro e o segundo éxon do gene do tripsinogênio. Esse segmento sofreu expansão e várias duplicações (talvez por *slippage* ou *crossing-over* desigual), produzindo um fragmento de DNA com 41 repetições em tandem. Dessa forma, o gene AFGP atual retém, ainda como evidências do seu nascimento, sequências em ambas as extremidades que são quase idênticas ao gene do tripsinogênio. A retenção do final *5'* do gene do tripsinogênio pode ter sido significativa, pois essa região codifica um sinal peptídico utilizado para a secreção do pâncreas para o trato digestivo. Chen et al. (1997a) e Chen et al. (1997b) sugerem que uma versão ancestral do gene AFGP desses peixes pode ter apresentado uma primeira função, evitando o congelamento do fluído intestinal, que posteriormente expandiu para o sistema circulatório através da sua expressão no fígado.

Modo reprodutivo, ploidia, coleta e conservação

Modo reprodutivo e ploidia em plantas

As espécies de plantas podem classificar-se como autógamas, alógamas, polinização cruzada parcial e propagação assexuada. No primeiro caso, encontram-se espécies conhecidas como a soja, o feijão, a ervilha, o arroz, a aveia. Entre as que apresentam polinização aberta, encontram-se

o milho, o milheto, o centeio, o trigo sarraceno. No grupo intermediário, entre plantas autopolinizantes e alógamas, encontram-se os exemplos de algodão, amaranto e quinoa (SPEHAR, 2006).

O modo de reprodução é fator determinístico à adaptabilidade de populações aos ambientes. O milho, exemplo clássico de planta alógama, apresenta grande plasticidade. Por contínuos cruzamentos entre indivíduos, através de gerações, uma determinada população, quando introduzida em outro ambiente, apresenta mudança na frequência gênica. Isso se dá por efeito da seleção natural, que favorece as combinações que melhor se adaptam ao novo ambiente.

Contudo nas plantas autógamas, quando surge um cruzamento, em geral em baixas taxas, novas combinações são fixadas ao longo de gerações, em plantas homozigotas. Também nesse caso, as melhores combinações sobrevivem, porém a variabilidade em uma população é entre indivíduos. Quando um desses indivíduos é selecionado, surge um novo genótipo.

Nas plantas intermediárias, existe certa uniformidade fenotípica em populações, ainda que ocorram recombinações criando novas oportunidades ao surgimento de indivíduos adaptados. Por apresentarem uma proporção de variabilidade dentro de indivíduos, sua adaptação pode ser ampliada, a partir de melhoramento populacional (SPEHAR, 2006).

Quais os fatores que influenciam o modo de reprodução das plantas? Neste capítulo, faremos apenas uma definição dos principais condicionantes. Um deles é a estrutura floral. Em soja, por exemplo, os componentes da flor se fecham em torno do gineceu e do androceu, criando barreira física à polinização cruzada. Somente pequenos insetos podem realizar o feito, daí a baixa frequência. O mesmo ocorre com feijão e arroz. Já em milho, os mesmos órgãos se encontram em flores separadas de uma mesma planta. Nesse caso, recebe a denominação de espécie monoica. Aliado a isso, o pólen é leve levado pelo vento e produzido nas flores

masculinas, situadas no topo da planta. Não há como a espécie tornar-se autógama com essa estrutura floral.

Crê-se que essa diferença foi exacerbada ao longo da coevolução entre populações humanas e a espécie *Zea mays*. Contudo, com tanta plasticidade, não é de se estranhar que inúmeras populações de milho existiam entre os povos da América. Essas foram mantidas, melhoradas e utilizadas pelas populações indígenas e de origem europeia até o século 20, quando surge o conceito de milho híbrido, aproveitando o vigor da heterose em plantas alógamas.

Entretanto, há outros fatores que condicionam polinização cruzada como protandria ou protoginia. Ambos consistem no amadurecimento dos órgãos reprodutivos em períodos diferentes, limitando a autogamia. Há ainda a autoincompatibilidade, que pode ser esporofítica, quando o tubo polínico de um grão de pólen não germina ao atingir o estigma que contém o gene condicionante. Enquanto na gametofítica, ocorre a germinação do tubo, porém não há a fusão dos gametas e o ovo aborta. Outras barreiras que previnem cruzamentos são diferenças no florescimento e cleistogamia. Nesta, a flor se mantém fechada, como se ainda estivesse imatura, enquanto os órgãos reprodutivos encontram-se ativos.

O importante, sabendo-se o modo de reprodução, é planejar estratégias na coleta e na conservação da espécie. Nesse primeiro momento, concentraremos esforços em diferenciar plantas autógamas de alógamas, independente das causas. Vimos anteriormente que podem existir barreiras como diferenças na anatomia dos órgãos florais, separação dos órgãos reprodutivos, incompatibilidade, diferenças no ciclo que impedem coincidência na floração, maturidade reprodutiva diferenciada de órgãos masculinos e femininos.

Amostragem e Conservação

As diferenças no modo de reprodução são importantes na definição de amostragem para conservação da variabilidade genética. Em outras

palavras, populações de milho ou outras plantas alógamas podem ser mantidas a partir de amostras de sementes em indivíduos escolhidos ao acaso. Assim, coletas devem ser orientadas para ampliarem-se o número de populações, quando se pretende manter a diversidade. Ademais, as amostras podem ser estratificadas, se o objetivo é moldar a população, aumentando a frequência de indivíduos fenotipicamente desejáveis. Isso, na prática, é o que se caracteriza seleção massal.

Em plantas autógamas, é importante definir o número de indivíduos a ser amostrado para representar uma população. Na natureza, ela será composta, com alta probabilidade, de indivíduos homozigotos. Estes representam as possíveis combinações que sobrevivem, mostrando-se mais adaptadas às condições do ambiente onde se originaram. Cada um deles pode gerar uma nova linhagem.

Quando se mantêm progênies separadas, tem-se a obtenção de genótipos, os quais constituem o alvo da conservação. Entretanto, aumento no número de indivíduos amostrados pode constituir-se em fator limitante. A solução, nesse caso, é colher pequeno número de sementes (uma a duas vagens, no caso da soja) por indivíduo, dando oportunidade a todos os componentes da população de estarem representados.

Nas plantas de propagação vegetativa ou apomítica, as estratégias são definidas de forma peculiar. Em apomixia, as sementes se formam com embrião originário do tecido materno. Isso equivale dizer que são como clones da planta mãe. Da mesma forma, leva-se em conta o modo de reprodução para amostragem. Assim, por exemplo, em mandioca (*Manihot esculenta*), uma planta alógama, pode-se amostrar indivíduos em uma população, pelas sementes, seguindo o processo já descrito. Contudo, se as sementes não se encontram disponíveis, amostra-se por secções do caule (manivas).

Em plantas apomíticas, como *Brachiaria decumbens*, as populações são homogêneas. Com muito baixa frequência, ocorrem indivíduos mu-

tantes. Nesse caso, a probabilidade de ocorrência de mutação nos alelos de um mesmo lócus é extremamente baixa. Pode-se dizer que apomixia é um fim de linha, pois não gera novas combinações. O artifício para gerar variabilidade é contornar o problema via pesquisa.

Trabalhos têm sido conduzidos para cruzar *B. decumbens* tetraploide com *B. ruziziensis* diploide. Esta produz sementes a partir da célula ovo que se forma na fecundação. A solução encontrada foi duplicar o número de cromossomos, com o uso de colchicina. Com a mesma ploidia, o híbrido entre as duas espécies é fértil. Esse método tem sido adaptado para outras espécies (VALLE; MILES, 1992). A tarefa é avaliar as progênies, separando-se as apomíticas para formar uma coleção. A população pode ser mantida para seleções in loco.

A ploidia, isto é, o número de pares de cromossomos, é fator importante na definição de amostras populacionais. Como visto anteriormente, muitas espécies cultivadas são poliploides. Os alopoliploides se originaram da junção de genomas acumulando diferenças, provavelmente por mutações nos lócus de forma a que aumentassem as diferenças entre eles. Assim, não ocorre pareamento irrestrito, e os cromossomos de cada genoma permanecem separados. A segregação nesse caso é diploide. No processo de coleta, os princípios de amostragem seguem os padrões especificados para autógamas, alógamas e intermediárias.

Ademais, em espécies autotetraploides, a segregação segue padrões diferentes das relações mendelianas encontradas nas diploides. A amostragem deve ser concentrada em um maior número de indivíduos, quando a propagação é por sementes. Esse é o caso da batata (*Solanun tuberosum*).

O germoplasma da espécie tem se baseado em coletas de clones, pois apresenta propagação assexuada. Entretanto, na natureza ou em experimentos conduzidos pelo homem, podem ocorrem cruzamentos e segregação. Em batata, por métodos apropriados, introduziu-se a extração de haploides férteis, os quais podem ser cruzados com outros haploides com

caracteres desejáveis e, se duplicados com conchicina, resgata-se a tetraploidia (JANSKY et al., 2004). Assim, por artifícios, podem-se modificar populações, gerando variabilidade.

Esses exemplos ilustram a importância de se conhecerem o modo de reprodução das espécies e a sua constituição gênica na amostragem. Os estudos de citogenética, intensificados no século 20, têm um grande aliado que norteará os avanços em conservação de germoplasma: a biotecnologia, ajudando a desvendar características em plantas menos exploradas, com suas aplicações, possibilitando resgatar e gerar variações desejáveis à conservação de germoplasma.

Conservação de recursos genéticos

Conservar recursos genéticos significa "conservar a diversidade e a variabilidade das informações genéticas contida nos genomas dos indivíduos representativos das espécies", seja preservando o ambiente natural – conservação in situ – seja mantendo os germoplasmas em condições fora do seu ambiente natural – conservação ex situ.

Identificando a diversidade

Os genes com expressão no fenótipo são um referencial para acessar a diversidade. Desde tempos imemoriais, agricultores se basearam no aspecto visual de planta e animais para realizar seleções. Assim, em amaranto, a cor de sementes (preta dominante sobre outras cores) passou de geração em geração, separando populações selvagens de cultivadas (SPEHAR, 2007b).

Em quinoa, que também apresenta a característica de sementes pretas, ocorre o mesmo (SPEHAR, 2007a). Nesta, acrescem-se ainda a coloração do caule, do pecíolo, das folhas e das sementes, servindo como diferenciadores de variedades. Do mesmo modo, em soja, temos os marcadores de cor de flor, pubescência, vagem, sementes, hilo (IWASHINA

et .al., 2007; SPEHAR, 1995). Esses exemplos são uma pequena amostra que ilustra como se pode identificar variabilidade, via expressão fenotípica. Outros genes que condicionam caracteres de composição, como presença de saponina em quinoa, precisam de métodos específicos para análise, como agitando-se as sementes em água. A formação de espuma indica presença. Os genes que condicionam caracteres de composição organo-mineral ou resistência a alumínio precisam de avaliações mais sofisticadas para se identificar variabilidade (SPEHAR, 1995).

Nos tempos atuais, graças aos avanços da biologia molecular, tem sido possível estabelecer marcadores não visíveis no fenótipo; ou genes de menor expressão, com efeito quantitativo que condicionam produção de grãos. Os marcadores moleculares do DNA são fragmentos obtidos do genoma que permitem visualizar diferenças genéticas dentro ou entre populações. Quando não permitem distinguir indivíduos da população, diz-se que o marcador é monomórfico e, quando permite, é chamado de polimórfico. São obtidos vasculhando-se os genomas por técnicas de amplificação, sequenciamento de segmentos genômicos ou por fragmentação enzimática do DNA.

No caso das técnicas de amplificação, o material genético é copiado a partir de pequenos segmentos de DNA que servem de identificador da região polimórfica no genoma (DNA molde). Esses segmentos são conhecidos por inicializadores ou primers. Portanto, o polimorfismo é verificado pela presença e distância entre os locais identificados pelos primers.

Basicamente a amplificação é constituída por três etapas. Depois de rompidas as pontes de hidrogênio que unem a dupla hélice do DNA molde (etapa 1), há o pareamento do primer nas regiões de complementaridade que, por ventura, existirem no DNA molde (etapa 2). Após anelado o primer, a enzima do tipo DNA polimerase reconhece os locais de pareamento e inicia a cópia do segmento a partir da extremidade 5' do primer. Para tanto, faz-se necessário a presença de nucleotídeos e cofa-

tores enzimáticos e sais para a viabilização da reação (LEWIN, 2004; SAMBROOK, 1989). Entre as técnicas de amplificação, a mais utilizada é a da reação de polimerização em cadeia do DNA da sigla PCR (polimerase chain reaction). Nesse sistema, o controle de temperatura, duração de cada etapa e o número de vezes que se repetirá o ciclo amplificação são realizados com auxílio de um equipamento termociclador (LEWIN, 2004).

Nas técnicas que promovem a fragmentação do DNA, as enzimas mais utilizadas são aquelas que identificam e clivam sequências específicas no genoma conhecidas por sitos de restrição. As enzimas de restrição são, portanto, as que reconhecem e clivam os sitos de restrição. O polimorfismo é identificado pela presença e a distância entre esses sítios (LEWIN, 2004; SAMBROOK, 1989).

A visualização dos marcadores pode ser feita com o auxílio de técnicas de eletroforese em gel de agarose ou acrilamida no sistema de placa ou capilar (LEWIN, 2004; SAMBROOK, 1989).

É comum a combinação de técnicas nesses estudos como será melhor detalhado no capítulo "A genética molecular aplicada aos programas de conservação e uso de recursos genéticos" (Confira Cap. 6, desta obra).

Considerações Finais

Na atualidade, tem-se desenvolvido mecanismos moleculares que permitem gerar variabilidade e diversidade genômica, além de auxiliar na classificação de acessos em bancos de germoplasma.

Especial importância se atribui aos avanços na biologia molecular que se propõe a manipular a vida. Por interferência humana, novas formas de vida surgem como alento à perda de diversidade na natureza, causada pelo próprio homem. Algumas se mantêm e outras se perdem,

a depender da pressão de seleção exercida sobre elas. Na seleção dos indivíduos mais aptos, por efeito ambiental, podem se desencadear ainda processos celulares que resultam na alteração de genomas e consequentemente aumento da variabilidade e diversidade (COSTA; MARTINS, 2010).

Antes dos avanços das últimas décadas, acreditava-se que as modificações genômicas fossem lentas e quase imperceptíveis. A plasticidade das espécies em responder ao ambiente gerando variações é fantástica. Isso equivale a dizer que a conservação de um recurso genético corresponde apenas a um retrato instantâneo da variabilidade identificada até o momento. Os mecanismos que geram modificações genômicas são poderosos e nem sempre é fácil garantir a recuperação da imagem tal qual era no momento em que fora obtida. Contudo, mantê-los é garantir o legado para as futuras gerações num planeta cada vez mais devastado pelas ações do ser humano.

Referências

AMORES, A.; FORCE, A.; YAN, Y. Zebrafish *hox* clusters and vertebrate genome evolution. **Science,** v. 282, p. 1711-1714, 1998.

AZAD, R. K.; LAWRENCE, J. G. Use of artificial genomes in assessing methods for atypical gene detection. **PLoS Computational Biology**, v. 1, n. 6, p. 56, 2005.

BACOLLA, A.; JAWORSKI, A.; LARSON, J. E.; JAKUPCIAK, J. P.; CHUZHANOVA, N.; ABEYSINGHE, S. S.; O'CONNELL, C. D.; COOPER, D. N.; WELLS, R. D. Breakpoints of gross deletions coincide with non-B DNA conformations **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS),** v. 101, p. 14162-14167, 2004.

BALL, E. V.; STENSON, P. D.; ABEYSINGHE, S. S.; KRAWCZAK, M.; COOPER, D. N.; CHUZHANOVA, N. A. Microdeletions and microinsertions causing human genetic disease: common mechanisms of mutagenesis and the role of local DNA sequence complexity. **Human Mutation**, v. 26, n. 3, p. 205-213, 2005.

BERNARDI, G. The human genome: organization and evolutionary history, **Annual Review of Genetics**, v. 29, p. 445-476, 1995.

CHEN, L.; DEVRIES, A. L.; CHENG, C. -H. C. Convergent evolution of antifreeze glycoproteins in Antarctic notothenioid fish and Arctic cod. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS)**, v. 94, n. 8, p. 3817-3822, 1997b.

CHEN, L.; DEVRIES, A. L.; CHENG, C. H. C. Evolution of antifreeze glycoprotein gene from a trypsinogen gene in Antarctic notothenioid fish. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS)**, v. 94, p. 3811-3816, 1997a.

CHOI, I.-G.; KIM, S.-H. Global extent of horizontal gene transfer. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS),** v. 104, n. 11, p. 4489-4494, 2007.

COSTA, A. M. Prospecção gênica e bioinformática. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; BUENO, F. **Biotecnologia**: estado da arte e aplicações na agropecuária. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010.

COSTA, A. M.; MARTINS, C. **Estrutura e evolução de genomas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 110 p.

COVARRUBIAS, L.; NISHIDA, Y.; MINTZ, B. Early postimplantation embryos lethality due to DNA rearrangments in a transgenic mouse strain**. Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS),** v. 83, p. 6020-6024, 1986.

DU, Q.; LIVSHITS, A.; KWIATEK, A.; JAYARAM, M.; VOLOGODSKII, A. Protein-induced Local DNA Bends Regulate Global Topology of Recombination Products. **Jounal of Molecular Biology**, v. 368, p. 170-182, 2007.

FAWCETT, J. A.; KAWAHARA, T.; WATANABE, H.; YASUI, Y. A SINE Family Widely Distributed in the Plant Kingdom and its Evolutionary History. **Plant Molecular Biology**, v. 61, n. 3, p. 505-14, 2006.

GOFF, S. A.; RICKE, D.; LAN, T. H.; PRESTING, G.; WANG, R. et. al. A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). **Science**, v. 296, n. 5565, p. 92-100, 2002.

GOFFEAU, A.; BARRELL, B. G.; BUSSEY, H. et al. Life with 6000 genes. **Science**, v. 274, p.546, 563-567, 1996.

GOGARTEN, J. P.; TOWNSEND, J. P. Horizontal gene transfer, genome innovationand evolution. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 9, p. 679-687, 2005.

GOGARTEN, J. P.; DOOLITTLE, W. F.; LAWRENCE, J. G. Prokaryotic evolution in light of gene transfer. **Molecular Biology Evolution**, v. 19, n. 12, p. 2226-2238, 2002.

GRINDLEY, N. D. F.; WHITESON, K. L.; RICE, P. A. Mechanisms of site-specific recombination. **Annual Review Biochemistry,** v. 75, p. 567-605, 2006.

GU, W.; DAVID, A.; RAY, D. A.; WALKER, J. A.; BARNES, E. W.; GENTLES, A. J. ; SAMOLLOW, P. B.; JURKA, J.; BATZER, M. A.; POLLOCK, D. D. SINEs, evolution and genome structure in the opossum. **Gene**, v. 35795, 2007. Disponível em: <http://www.elsevier.com/locate/gene>.

GU, Z.; CAVALCANTI, A.; CHEN, F. C.; BOUMAN, P.; LI, W. H. et al. Extent of gene duplication in the genomes of Drosophila, nematode, and yeast. **Molecular Biology and Evolution**, v. 19, p. 256-262, 2002.

HACKER J.; KAPER, J. B. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. **Annual Review Microbiology**, v. 54, p. 641-679, 2000.

HAN, K.; KONKEL, M. K.; XING, J.; WANG, H.; LEE, J.; MEYER, T. J.; HUANG, C. T.; SANDIFER, E.; HEBERT, K.; BARNES, E. W.; HUBLEY, R.; MILLER, W.; ARIAN, F. A.; ULLMER, S. B.; BATZER, M. A. Mobile DNA in Old World monkeys: a glimpse through the rhesus macaque genome. **Science,** v. 316, p. 238-240, 2007.

HARLAN, J. R. Genetic resources in wild relatives of crops. **Crop Science**, v. 16, p. 329-333, 1976.

HOEGGS, M. A. Hox clusters as models for vertebrate genome evolution. **Trends in Genetics**, v. 21, p. 421-424, 2005.

HOLLAND, P. W. H. The effect of gene duplication on homology. In: BOCK, G. R.; CARDEW, G. (Ed.). **Homology**. New Jersey, EUA: John Wiley & Sons, 1999. p. 226-242.

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

INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM.. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, p. 860-921, 2001.

IWASHINA, T.; GITHIRI, S. M.; BENITEZ, E. R.; TAKEMURA, T.; KITAJIMA, J.; TAKAHASHI, R. Analysis of flavonoids in flower petals of soybean near-isogenic lines for flower and pubescence color genes. **Journal of Heredity**, v. 98, n. 3, p. 250-257. 2007.

JANSKY, S. H.; DAVIS, G. L.; PELOQUIN, S. J. A genetic model for tuberization in potato haploid-wild species hybrids grown under long-day conditions. **American Journal of Potato Research**, v. 1, n. 5, p. 335-339, 2004.

JOHNSON, R. M.; PRYCHITKO, T.; GUMUCIO, D.; WILDMAN, D. E.; UDDIN, M.; GOODMAN, M. Phylogenetic comparisons suggest that distance from the locus control region guides developmental expression of primate beta-type globin genes. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS),**
v. 103, n. 9, p. 3186-3191, 2006.

KATZ, L. A. Lateral gene transfers and the evolution of eukaryotes: theories and data. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p. 1893-1900, 2002.

KAZAZIAN JUNIOR, H. H.; MORAN, J. V. The impact of l1 retrotransposons on the human genome. **Nature Genetics**, v. 19, p. 19-24, 1998.

KIM, T. M.; HONG, S. J.; RHYU M. G. Periodic Explosive Expansion of Human Retroelements Associated with the Evolution of the Hominoid Primate. **Journal Korean Med Science,** v. 19, p. 177-85, 2004.

KOLKMAN, J. A.; STEMMER, W. P. C. Directed evolution of proteins by exon shuffling. **Nature Biotechnology,** v. 19, p. 423-428, 2001.

KOUPRINA, N.; LEEM, S.–H.; SOLOMON, G.; LY, A.; KORIABINE, M.; OTSTOT, J.; PAK, E.; DUTRA, A.; ZHAO, S.; BARRET, J. C.; LARIONOV, V. Segments missing from the draft human genome sequence can be isolated by transformationassociated recombination cloning in yeast. **European Molecular Biology Organization (EMBO Reports)**, v. 4, n. 3, p. 257-262, 2003.

KURLAND, C. G.; CANBACK, B.; BERG O G. Horizontal gene transfer: a critical view. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS)**, v. 100, n. 17, p. 9658-9662, 2003.

LAN, M. S; MUGUIRA, M. An effective alternate cloning strategy for unstable mouse genomic sequences. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 330, p. 641-644, 2005.

LAWRENCE, J. G.; HENDRICKSON, H. Lateral gene transfer: when will adolescence end? **Molecular Microbiology,** v. 50, p. 739-749, 2003.

LAWRENCE, J. G.; HENDRICKSON, H. Genome evolution in bacteria: order beneath chaos. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, p. 572-578, 2005.

LEACH, R. F.; STAHL, F. W. Viability of λ phages carrying a perfect palindrome in the absence of recombination nucleases. **Nature**, v. 305, p. 448-451, 1983.

LEWIN, B. **Genes VIII.** New York: Prentice Hall, 2004. 1056 p.

LUI,-J. -F. Cytogenetic study of pure breed and hybrid wild boar (Sus scrofa scrofa) in Southeast and South Brazil. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 3, n. 1, p. 43-48, 2000.

LUNDIN, L -G. Gene duplications in early metazoan evolution. **Cell and Development Biology,** v. 10, p. 523-530, 1999.

MARRI, P. R.; HAO, W.; GOLDING, G. B. The role of laterally transferred genes in adaptive evolution. **BioMed Central Evolutionary Biology,** v. 7, suppl 1: S8, p. 1-14, 2007.

MEIMA, R.; HAIJEMA, B. J.; DIJKSTRA, H.; HAAN, G.-T.; VENEMA, G.; BRON, S. Role of enzymes of homologous recombination in illegitimate plasmid recombination in *Bacillus subtilis*. **The Journal of Bacteriology**, v. 179, n. 4, p. 1219-1229, 1997.

MELO, M. R.; POMMER, C. V.; KAVATI, R. Polinizacao artificial da atemoia com diversas fontes de polen comparada com a natural. **Bragantia**, v. 61, n. 3, p. 231-236, 2002.

MOMBAERTS, P. The human repertoire of odorant receptor genes and pseudogenes. **Annual review of Genomics Human Genetics**, v. 2, p. 493-510, 2001.

NEVES, C. S. V. J.; YUHARA, E. N. Caracterização dos frutos de cultivares de atemoia produzidos no norte do Paraná. **Semana de Ciências Agrárias de Londrina**, v. 24, n. 2, p. 311-313, 2003.

OHNO, S. **Evolution by Gene Duplication**. Berlin: Springer, 1970. 160 p.

PATEL, N. H.; PRINCE, V. E. Beyond the Hox complex. **Genome Biology**, v. 1, p. 1027.1-1027, 2000.

PATTHY, L. Evolution of the proteases of blood coagulation and fibrinolysis byassembly from modules. **Cell**, v. 41, p. 657-663, 1985.

POPTSOVA, M. S.; GOGARTEN, J. P. The power of phylogenetic approaches to detect horizontally transferred genes. **BioMed Central Evolutionary Biology**, v. 7, n. 45, p. 1-17, 2007.

RAVEL, J.; WELLINGTON, E. M. H.; HILL, R. T. Interspecific transfer of streptomyces giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 529-534, 2000.

RUJAN, T.; MARTIN, W. How many genes in arabidopsis come from cyanobacteria? An estimate from 386 protein phylogenies. **Trends in Genetics**, v. 17, n. 3, p. 131-120, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning:** a laboratory manual. 2° ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SIDOW, A. Genome duplications in the evolution of early vertebrates. **Current opinion in genetics & development**, v. 6, p. 715-722, 1996.

SONG, J.; DONG, F.; LILLY, J. W.; STUPAR, R. M.; JIANG, J. Instability of bacterial artificial chromosome (BAC) clones containing tandemly repeated DNA Sequences. **Genome**, v. 44, p. 463-469, 2001.

SPEHAR, C. R. (Ed.). **Amaranto**: opção para diversificar a agricultura e os alimentos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007b. 145 p.

SPEHAR, C. R. (Ed.). **Quinoa:** alternativa para a diversificação agrícola e alimentar. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007a. 104 p.

SPEHAR, C. R. A Conquista do Cerrado e Consolidação da Agricultura. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 195-226.

SPEHAR, C. R. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian tropical savannahs. **Review Field Crops Research**, v. 41, p. 141-146, 1995.

SPEHAR, C. R.; COSTA, A. M. C. Biodiversidade e recursos genéticos. In. COSTA, A. M. C.; SPEHAR, C. R.; VIEIRA, R.; SERENO, J. R. (Ed.) Recursos genéticos no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. B. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) BRS Piabiru: alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6 , p. 889-893, 2002.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. dos B. Alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 889-893, jun. 2002.

STIBITZ, T. B.; KEELING, P. J.; BHATTACHARYA, D. Symbiotic origin of a novel actin gene in the cryptophyte *Pyrenomonas helgolandii*. **Molecular Biolology Evololution**, v. 17, p. 1731-1738, 2000.

STRADER, M. B.; HOWELL, E. E. Stable maintenance of tandem array of four R67 dihydrofolate reductase genes. **Focus**, v. 19, n. 2, p. 24-25, 1997.

THE *ARABIDOPSIS* GENOME INITIATIVE. Analysis of the genome sequence of the fowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, v. 408, p. 796-815, 2000.

THE C. ELEGANS SEQUENCING CONSORTIUM. Sequence and analysis of the genome of C. elegans. **Science**, v. 282, p. 2012-2018, 1998.

THOMPSON, J. R.; PACOCHA, S.; PHARINO, C.; KLEPAC-CERAJ, V.; HUNT, D. E.; BENOIT, J.; SARMA-RUPAVTARM, R.; DISTEL, D. L.; POLZ, M. F. Genotypic diversity within a natural coastal bacterioplankton population. **Science**, v. 307, n. 5713, p. 1311-1313, 2005.

VALLE, C. B. do; MILES, J. W. Breeding of apomictic species. **Apomixis News**, n. 5, p. 37-47, 1992.

VENTER, J. C.; ADAMS, M. D.; MYERS, E. W. The sequence of the human genome. **Science**, v. 291, p. 1304-1351, 2001.

WANG, G.; CHRISTENSEN, L. A.; VASQUEZ, K. M. Z-DNA-forming sequences generate large-scale deletions in mammalian cells. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS)**, v. 103, p. 2677-2682, 2006.

WATSON J. D.; CRICK F. H. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**, v. 171, n. 4356, p. 737-8, 1953.

WELLS, R. D. Non-B DNA conformations, mutagenesis and disease. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 32, n. 6, p. 271-278, 2007.

WILKIE, T. J.; PALMITER, R. D. Análysis of the integrant in MyK-1103 transgenic mice in with males fail to transmit the integrant. **Moleculaand Cellular Biology** v. 7, p. 1946-1655, 1987.

WOJCIECHOWSKA, M.; BACOLLA, A.; LARSON, J. E.; WELLS, R. D. The Myotonic Dystrophy Type 1 Triplet Repeat Sequence Induces Gross Deletions and Inversions. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, p. 941-952, 2005.

WOJCIECHOWSKA, M.; NAPIERALA, M.; LARSON, J. E.; WELLS, R. D. Non-B DNA conformations formed by long repeating tracts of myotonic dystrophy type 1, myotonic dystrophy type 2, and Friedreich's Ataxia genes, not the sequences per se, promote mutagenesis in flanking regions. **The Journal of Biological Chemistry,** v. 281, n. 34, p. 24531-24543, 2006.

WYMAN, A. R.; WERTMAN, K. F.; BARKER, D.; HELMS, C.; PETRI, W. H. Factors wich equalize the representation of genome segments in recombinant libraries. **Gene**, v. 49, p. 263-271, 1986.

WYMAN, A. R.; WOLFE, L. B.; BOTSTEIN, D. Propagation of some human DNA sequences in vector requires mutant *Escherichia coli* host. **Proceedings of the National Academy Science of the USA (PNAS),** v. 82, p. 2880-2884, 1985.

ZHANG, J. Evolution by gene duplication: an update. **Trends in Ecology and Evolution,** v. 18, p. 292-298, 2003.

ZHANG, X.; FIRESTEIN, S. The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. **Nature Neuroscience,** v. 5, p. 124-133, 2002.

2

Biodiversidade e Recursos Genéticos

Carlos Roberto Spehar
Ana Maria Costa

Introdução

A diversidade biológica – fruto das interações dos seres vivos com o ambiente – é o sustentáculo da vida no planeta Terra. Se tudo fosse estático, as formas biológicas não estariam sob pressão de mudanças e permaneceriam como se encontravam, passando aos descendentes a mesma herança genética. Os novos arranjos persistem por condicionar vantagens comparativas de sobrevivência. Com as alterações ambientais, ao longo do tempo, as combinações favoráveis se acumulam nas diferentes formas de vida.

Como observado por Darwin (1902), em "A Origem das Espécies", e outros sucessores, torna-se necessário entender o meio habitado pelos seres vivos, pois está sob constantes alterações e são, por vezes, verdadeiros cataclismos naturais. O clima se alternou entre períodos de aquecimento e de glaciações em grandes áreas. Climas relativamente estáveis por períodos podem estar sujeitos a mudanças, como a ocorrência de

secas ou excessos de precipitação. Vejam-se os exemplos de El Niño ou La Niña, na América do Sul, em que se alternam ciclos de variação climática, com alguma duração. Em ambientes naturais, quando esses ciclos são suficientemente longos, podem influenciar na mudança populacional dos seres vivos.

Por sua vez, solos originários de rochas básicas (basalto) ou ácidas (granito), que são o sustentáculo das plantas e outros organismos vivos, apresentam composição química e, consequentemente, biológica próprias. Vejam-se os exemplos de áreas de aluvião, onde se depositam resíduos e partículas, e de terras altas de Cerrado. O solo é, além do suporte para as plantas, a sua fonte de nutrientes, no entanto pode apresentar limitações físicas ou ocasionadas por elementos tóxicos. Nem mesmo o solo escapa aos efeitos dos fatores climáticos, pois, ao longo do tempo, transforma-se, mudando, assim, as relações com os seres vivos dele dependentes.

As interações entre clima, solo e a vida deles dependente formam um grande conjunto de variações, condicionantes da frequência e dispersão de populações de plantas e demais organismos associados a elas. Nessa interdependência, aparece o ser humano como o grande transformador do meio. Na atualidade, as mudanças e os cataclismos são, em grande parte, provocados por esse componente dos ecossistemas.

Vale a pena acrescentar que as plantas e os animais sofreram grandes transformações juntamente com os humanos, logo se pode dizer que eles coevoluíram (SPEHAR; CARVALHO, 2006).

Do convívio do ser humano com plantas e animais, surgiu a agricultura. Deixando uma vida nômade de coletor, o homem se estabeleceu, com suas comunidades; construiu casas; por conseguinte se organizou em sociedades (SPEHAR; CARVALHO, 2006). O seu crescimento, em decorrência do aprimoramento dos cultivos, gerou cidades. Delas surgiu a civilização, criando novas oportunidades em ciclos de mudanças que se

sucederam, sem jamais parar. Claro que esse período, se comparado ao da origem da Terra, equivale a segundos que se passaram até chegarmos aos paradigmas do século 21.

O contraste entre comunidades tradicionais e a agricultura moderna, com cultivos de base, passa a ter importância nesse entendimento. Como membro destacado da coevolução, o homem domesticou plantas e animais. Suas ações foram frutos de intensa convivência, como mostram estudos arqueológicos (BAR-YOSEF; KISLEV, 1989). Nessa coexistência, quando as comunidades eram essencialmente rurais, é que se deu a seleção de combinações desejáveis, gerando imenso número de variedades para uma mesma espécie. Cada uma delas, constituindo um genótipo, forma uma oportunidade a ser explorada, que tem servido de sustentáculo das atividades humanas relacionadas ao cultivo de plantas e animais.

As grandes mudanças ensejadas pela apropriação dessa diversidade, no exercício do convívio ao longo de gerações, hoje se voltam contra o próprio ser manipulador (SPEHAR, 2007). As populações são predominantemente urbanas, nas mesmas cidades que ajudaram a criar com o apoio da atividade agrícola, pecuária e pesqueira. Logo se reduz cada vez mais o contato direto com as plantas e animais, sejam eles domesticados ou não.

Aos poucos, foi se perdendo a importância da agricultura, numa inversão de valores, pois ela é a fonte mesma da existência humana. Essa característica merece análise. Quando as comunidades sofrem escassez de alimentos e vivem à beira da fome, a dimensão é outra. Cada produto derivado das atividades agrícolas tem um valor exacerbado. Saciada a necessidade, perde-se esse valor. Por isso, vale a pena enfatizar a importância do componente psicossocial. As comunidades modernas distanciam-se cada vez mais de suas origens e sustentação, pois a volta às origens tem um efeito nostálgico. Nesse contexto, as atividades primárias, como as da agropecuária, são consideradas primitivas, porque nelas

não há os avanços, o conforto e a comodidade do meio urbano. Portanto, comportam-se como se os problemas fossem resolvidos apenas nas asas da imaginação, diante de um computador, por exemplo.

Então, o paradoxo deve ser enfrentado. Ainda que as diversas formas de vida sejam úteis e necessárias ao ser humano, decresce a sua importância em razão do distanciamento. Piorando a situação, não haverá mais coevolução na mesma intensidade em que ocorreu até o século 20. Assim, os objetivos deste texto são (a) enfatizar a importância da biodiversidade, para todos os seres vivos, resgatando uma atitude que tem se perdido nos cultivos de base, ou commodities, em grandes extensões de agricultura comercial; (b) indicar quais são os pontos relevantes para aprimorar o conhecimento biológico e aumentar a eficiência na obtenção, seleção e conservação de genótipos das espécies de plantas, animais e demais seres vivos, tornando os germoplasmas representativos das variações; (c) mostrar que há caminhos alternativos na resolução do impasse causado pela reduzida população dos habitantes rurais nos processos de seleção e domesticação; (d) apresentar exemplos de como a conservação dos recursos genéticos resgata alimentos e valores culturais, abrindo oportunidade para a diversidade biológica e alimentar; e (e) exemplificar como a diversidade conservada e aplicada aos sistemas de produção aumenta a plasticidade da vida e as chances de sobrevivência.

Percepção da Diversidade

A diversidade biológica pode ser percebida de diversas formas, como, por exemplo, avaliando-se a presença de plantas, animais e outros seres vivos nos ambientes. Estes podem ser naturais, formando parte de biomas, ou alterados pelo homem. Utilizaremos um exemplo no Bioma Cerrado (SPEHAR, 2007).

Iniciemos por uma caminhada nesse ambiente único, cuja área principal situa-se entre outros grandes biomas, como o da Floresta Atlânti-

ca, da Catinga, do Pantanal e da Amazônia. Há uma relação entre eles, encontrando-se algumas espécies que são comuns a todos. Há também outras que evoluíram a partir de um ancestral comum, divergindo em função do ambiente. É o exemplo de bignoniáceas. Há o ipê do cerrado (*Tabebuia aurea*) e o ipê da mata (*Tabebuia serratifolia*). Tudo o que ocorre em um desses biomas pode afetar a frequência e distribuição de vida no outro.

A primeira impressão que o Cerrado nos transmite é a sensação de se estar diante de um ambiente insólito. Há árvores tortas como se tivessem sofrido escaramuças na luta pela sobrevivência. Algumas, vigorosas, como o carvoeiro (*Sclerolobium paniculatum*), crescem rapidamente, para depois morrerem. Elas deixam o ambiente modificado, para que outras espécies se beneficiem, em uma sequência somente percebida se o caminhante se detém a analisar os detalhes (SPEHAR, 2007).

O carvoeiro, assim como outras plantas leguminosas, por pertencerem à família das fabáceas, contribui fornecendo nitrogênio às espécies sucessoras. Esse elemento, que antes estivera no ar, é transformado pelas bactérias simbiontes fixadoras de nitrogênio e passado à planta hospedeira que, em troca, forneceu produtos da fotossíntese. Certamente, nesse ambiente diverso, as bactérias também apresentam grande variação, ainda que pouco percebida.

Em uma análise mais profunda, percebe-se haver uma interdependência em que cada uma das espécies causa algum grau de influência no meio. Por exemplo, existem aquelas que são acumuladoras de silício, como as *Faramea cyanea*. O papel do silício nas plantas se desvenda a cada dia, tendo sido associado a processos que podem promover resistência a certas pragas. Esse elemento, porém, é pouco abundante nos solos ácidos do Cerrado. Provavelmente, as folhas dessas espécies, ao se decomporem, liberam o elemento, trazido das camadas mais profundas do solo, disponibilizando-o às plantas que habitam um ambiente mais próximo à superfície (BRITEZ et al., 2002).

Outras plantas típicas do Cerrado acumulam alumínio em seus tecidos (HARIDASAN, 1982). Esse elemento é tóxico a muitas outras, principalmente às cultivadas. O provável é que, ao ciclarem nutrientes, imobilizam alumínio, criando um ambiente menos hostil à sua volta, trazendo, para o seu interior, o elemento tóxico. Dessa forma, permitem que outras espécies se associem a elas. Essas espécies, por sua vez, retêm alguns nutrientes em seus detritos, os mesmos que estariam sujeitos à lavagem pelas chuvas torrenciais, caso estivessem livres no solo.

A observação nos diz que a mistura de espécies nos ambientes naturais é fruto de uma necessidade recíproca. Cada qual ocupa seu nicho, porém não se isolam; ao contrário, abrem espaço para a diversidade, pois dela dependem, numa combinação imensa de possibilidades, das quais aventamos apenas alguns casos.

Durante a caminhada, são vistas tantas outras plantas pertencentes a famílias botânicas endêmicas, com características peculiares. Há inúmeros insetos, também únicos ao bioma. Os gradientes fisionômicos encontrados no Cerrado mostram variações desde o campo limpo, campo sujo, cerrado típico, cerradão, à mata ciliar. Há ainda o cerrado rupestre em áreas pedregosas, acima de 900 m de altitude; o de mata de calcário, onde afloram as jazidas; as veredas, onde afloram os lençóis e ocorrem espécies típicas desses locais, como o buriti (*Mauritia flexuosa* L.).

Quando se pratica agricultura nesse domínio, modificando-o, com adição de fertilizantes e corretivos do solo, deixa-se a impressão de que os problemas de miserabilidade ambiental estão resolvidos. Suprem-se nutrientes, corrige-se a acidez, cria-se condição ao cultivo comercial. Aí se inserem as plantas cultivadas, que dão retorno econômico, para ocupar um espaço antes rico em diversidade (SPEHAR, 2007). Contudo, surgem problemas ambientais cada vez mais complexos em decorrência da ação humana. Por mais que haja ciência auxiliando na solução dessas questões, sem compreendermos como funciona a dinâmica de interações entre seres vivos, não logramos estabelecer equilíbrio duradouro.

Nesse afã de aumentarmos a produção agropecuária, sacrificamos a diversidade biológica, mesmo antes de conhecê-la nas suas nuances mais profundas. Estaríamos reavivando o que já foi dito anteriormente (DARWIN, 1902), ao afirmarmos que nossa percepção, ainda que ampliada com lente de aumento, em relação aos estudos do século 19, ainda é estreita.

Em sua época, Darwin reclamava a necessidade de se aperfeiçoarem os estudos geológicos, na esperança de compreender os acontecimentos relativos à vida na Terra. Hoje, com as ferramentas modernas da biotecnologia, com avanços fenomenais relativos ao seu tempo, ainda arranhamos a superfície. Há ações fundamentais, e sucessivas, que se fazem necessárias: uma é descobrir a diversidade biológica; outra, as variações genéticas entre indivíduos e populações da mesma espécie; em decorrência, deve-se conhecer o modo de reprodução e a genética das espécies; bem como formar bancos de germoplasma representativos da variabilidade. A aplicação de modernas ferramentas da biotecnologia deve contribuir para melhor conhecermos a diversidade de um bioma tão rico como o do Cerrado para pensar na conservação, seja no ambiente onde se originam (in situ) ou fora dele (ex situ).

A caminhada pelo segundo maior bioma brasileiro, usada como exemplo, é uma oportunidade de descobrimos o gosto de buscar, indagar, num processo em que não vale a pena relacionar com a cronologia humana (SPEHAR, 2007). Não pode haver desânimo, diante de tanto que ainda falta saber. A compreensão dos processos vitais, a identificação da diversidade e a intensificação dos estudos para conservá-la são ações que nos permitem abrir horizontes. A conservação de espécies de expressão econômica é um desafio tão grande quanto identificar e domesticar novas espécies que comporão a diversificada agropecuária do futuro.

O mais importante é conscientizar as gerações sobre a importância daquilo que ainda não se conhece. A caminhada no Cerrado permite ain-

da apreciar o tamanho de nossas limitações e, ao mesmo tempo, nossa ousadia. Num desespero de sobrevivência, modificamos o meio, criando prosperidade temporária, com agricultura altamente especializada. Isso, à custa de estreita diversidade, aumentando as ameaças (SPEHAR, 2007).

Essas ameaças não tardam a chegar, dinâmicas como a vida ao redor, propiciadas pela abundância de luz e calor. Entretanto, vêm desenfreadas, em franco exemplo de desequilíbrio. Não dá para ignorar o apelo da natureza, que cobra com juros por nossa solução simplista. Vejam-se os exemplos de epidemias, ameaças crescentes aos cultivos que sustentam grandes contingentes de humanos (SPEHAR, 2007). Portanto, antes que o Cerrado e outros biomas sejam extintos sem que os conheçamos, caminhemos por eles, para começar. Quem sabe nos inspirem a entender a importância da diversidade.

Sistemas Agrícolas e Diversidade

Antes de tudo, vale a pena contrastar a diversidade da agricultura tradicional, em geral diversificada, fruto do convívio de gerações, com os plantios cada vez mais homogêneos nas grandes áreas agrícolas, como o Cerrado (SPEHAR; CARVALHO, 2006). As comunidades tradicionais reúnem a herança de gerações que, ao conviverem com as plantas e animais, os domesticaram. A imensa variabilidade que persistiu até os dias atuais e que serve de base para o melhoramento genético tem sido conservada por elas.

Entretanto, essas comunidades, por se encontrarem em condição de subsistência, vão aos poucos se extinguindo, pondo em risco a herança milenar da humanidade. Quando analisado o contexto das grandes áreas de agricultura no mundo, percebe-se que são povoadas por poucas espécies de estreita base genética, sob cultivo repetitivo (SPEHAR, 2006). O fenômeno parece universal, derivado do conceito de cultivos de

base, com cadeia produtiva complexa, em que o agricultor é apenas um dos elos de uma corrente. Ele perde cada vez mais o poder de decisão, principalmente sobre o que cultivar. A homogeneidade passa a ser uma condição imposta pelas forças de mercado.

O estabelecimento de cultivos especializados, de estreita base genética, é um desafio às leis da natureza, notadamente nos trópicos (SPEHAR, 2006). No Cerrado típico, mesmo diante das limitações naturais – solo ácido, pobre em nutrientes, e clima com longo estresse hídrico – podem ocorrer até 300 espécies por hectare. Essa frequência é produto de adaptação e equilíbrio entre os seres vivos, os quais são mais abundantes em ambientes tropicais. Nos ambientes temperados, o número é menor, com valores entre 10% e 15% daquele valor. A descontinuidade, ou baixa densidade de indivíduos da mesma espécie, é o fator de equilíbrio.

Esse equilíbrio é perdido, quando se substitui o povoamento da diversidade por um pequeno número de espécies com estreita base genética. Contudo, essa é a prática que tem sido comum no Cerrado desde o início da exploração intensiva. Mesmo diante do sucesso, calcado nos avanços tecnológicos, esse período é muito curto para avaliar a perspectiva de agricultura sustentável (SPEHAR, 2006).

Os exemplos que nos são dados indicam que, quando se deixa de imitar a natureza, usando-se um modelo de agricultura como o praticado na atualidade, compromete-se o futuro. Induz maior uso de insumo, em ameaça constante à margem líquida de lucro, limitando a sobrevivência do agricultor. Em grandes áreas de cultivo, comuns no Cerrado, o custo adicional é absorvido pela escala, resultando em volume de produção e compensando, em parte, a reduzida receita (SPEHAR, 2006). Entretanto, quando ocorrem epidemias inevitáveis, quedas de preços e mudanças nos termos de troca entre países, o agricultor vê-se ameaçado.

Sem diversidade, reduzem-se as oportunidades de se aplicarem práticas sustentáveis, que aumentam a eficiência e conservam o que ainda

resta nos biomas. Mesmo assim, é possível introduzi-las, aumentar renda e reduzir custos. O desafio para o futuro é saber como reverter as tendências de adotar modelos inadequados às condições tropicais.

A diversidade na agricultura tradicional, fruto do convívio de gerações, ainda se encontra em regiões não muito distantes. A América do Sul é o centro de origem de espécies para a agricultura mundial e de outras ainda pouco conhecidas e potencialmente importantes. Em uma visita aos locais nesse continente, pode-se perceber a grande variabilidade, refletida nos produtos comercializados nas feiras comunitárias. Geneticistas rapidamente percebem a diversidade refletida no visual colorido. Porém esse cenário contrasta com os plantios cada vez mais homogêneos em grandes áreas agrícolas. No período de 30 anos, milhões de hectares de vegetação nativa com ampla diversidade, na grande região ecológica dos Cerrados, foram substituídos por cultivos de soja, milho e de feijão (SPEHAR, 2006).

Por um lado, isso fez com que o Brasil mudasse sua condição: de importador tornou-se destacado exportador de produtos agrícolas, valorizando a nossa capacidade de gerar tecnologia voltada aos trópicos.

Por outro lado, a soja e o milho, cultivos predominantes na produção de grãos, são altamente homogêneos. Por exemplo, as variedades de soja, uma planta autógama, são originárias de um pequeno grupo de genitores comuns. O cultivo comercial estabelece a necessidade de acumular genes favoráveis para rendimento, ausência de deiscência e acamamento, qualidade de sementes, resistência a doenças, entre outros (SPEHAR, 2006). Os genitores de baixa adaptabilidade, que servem de fonte de genes específicos, são utilizados em cruzamentos recorrentes para selecionar os mais adaptados. Portanto, mantém-se a estrutura já adquirida, pinçando-se apenas o que interessa, permanecendo estreita a base genética.

O mesmo ocorre com o cultivo comercial de milho. Assim, nossa agricultura, apesar de ter elevado desempenho tecnológico, é, ao mesmo

tempo, vulnerável por contrariar as tendências de diversidade expressas pela natureza. Aqui vale um comentário: antes do advento do milho híbrido, acessível aos agricultores mundiais a partir dos anos 1940-1950, cultivavam-se populações de polinização aberta, melhoradas localmente pelos agricultores, via seleção massal.

Essas populações apresentavam variabilidade para muitas características, como reação a pestes, e eram fixadas em outras, como ciclo (número de dias até a maturação) e altura de plantas. Isso lhes conferia um poder tampão às pragas e doenças, pois nem todas as plantas no cultivo eram susceptíveis (SPEHAR, 2006). Sob o pretexto de que o milho híbrido era mais produtivo e homogêneo, houve uma propaganda maciça, a partir dos Estados Unidos, para que os agricultores adotassem essa prática. Dessa forma, substituíram suas variedades locais pelas novas sementes. Do ponto de vista de conservação de recursos genéticos, o evento foi desastroso, pois perdeu-se valioso material genético, aumentando-se a vulnerabilidade dos cultivos.

Sob o ponto de vista econômico, esse sistema é rentável, por isso o setor privado tem investido na seleção constante de novos híbridos, cada vez mais produtivos, que geram mais renda. Se o agricultor ganha mais, pode pagar caro por insumos, como as sementes, os fertilizantes e defensivos, geralmente supridos pelas mesmas empresas, sustentando assim alguns elos da cadeia produtiva. Entretanto, visto pelo ângulo biológico, o sistema é frágil, principalmente nos trópicos. No Brasil, por exemplo, aumentam-se os problemas fitossanitários, pois os híbridos são homogêneos; dessa forma, caso sejam susceptíveis a um patógeno ou inseto, todas as plantas estarão sujeitas ao ataque.

Aqui vale ressaltar a diferença que há entre países de clima temperado e os dos trópicos. Não havendo temperatura limitante, pode-se cultivar milho o tempo todo, ensejando a multiplicação de insetos e micro-organismos causadores e epidemias. Nesse cenário, quando não se explora o potencial de cultivo, o milho de polinização aberta é mais vantajoso ao

agricultor. Porém, não traz renda aos produtores de sementes. Esse é um dilema a ser enfrentado quando se explora a variabilidade genética nas populações de milho que ainda são mantidas em bancos de germoplasma.

O aumento de rendimento em monocultivos, à custa de uso intensivo de insumos, tem sido comum nos países desenvolvidos onde há escassez de terras agricultáveis. Nesse cenário, comum em ambientes temperados, empregam-se grandes quantidades de fertilizantes no cultivo de variedades altamente responsivas (SPEHAR, 2006). Dessa forma, eleva-se o rendimento a níveis jamais alcançados. Entretanto, maiores quantidades de defensivos são requeridas, em detrimento da qualidade ambiental. No longo prazo, os custos não se pagam, a menos que sejam mantidos por artificialismo de subsídios, contrários às regras mundiais de livre mercado.

Em suma, ambientes naturais nos trópicos exibem vida abundante e de ampla diversidade. Esse é um recurso evolutivo para atingir o ponto de equilíbrio entre espécies de seres vivos, co-habitantes da mesma área. As populações humanas que se desenvolveram como civilização tropical, por força do convívio e observação, sabiamente imitaram a natureza (SPEHAR; CARVALHO, 2006). Por isso, persistem até os dias atuais. A questão que precisa de resposta é como viabilizar economicamente sistemas diversificados de produção, resgatando o convívio do ser humano com as plantas e animais. Sem esse convívio, o futuro será fatalmente previsível. Mais ainda, como conservar de forma dinâmica e participativa os recursos genéticos.

Para complicar, nas propriedades de agricultura comercial, há pouco contato do agricultor com as espécies que cultiva. Situação oposta à que se encontra em comunidades tradicionais, onde, como vimos, a diversidade reflete interação entre seres vivos.

Nesse cenário de alta especialização e baixa diversidade, reduz-se a oportunidade de participar na seleção de variedades de plantas adaptadas

às condições específicas dos sistemas produtivos. No esforço para atingir elevados índices técnicos e de rendimento, as plantas silvestres são excluídas e perde-se a oportunidade de originar novos cultivos a partir delas. O papel de domesticar fica cada vez mais restrito, comprometendo as gerações futuras.

Por um lado, os sistemas homogêneos terão ameaças biológicas crescentes, comprometendo a atividade econômica e a dieta das populações. Os efeitos da homogeneidade, somados ao agravamento das instabilidades climáticas crescentes, em decorrência da atividade humana, colocam em jogo a própria sobrevivência da humanidade.

Por outro lado, têm-se ameaças à imensa diversidade, que persistiu até os dias atuais. Conservada e mantida por comunidades de agricultores, tem sido a principal fonte de variabilidade ao melhoramento genético. A ameaça é mais crítica sobre as espécies que ainda não despertaram o interesse mundial. Nessas comunidades, em geral associadas a plantas domesticadas in loco, os cultivos diversificados, em geral, harmonizam-se com a natureza. Contudo, pela condição de baixo índice de eficiência e de acesso a insumos essenciais, como fertilizantes, reduz-se a sua competitividade.

Esse é um paradoxo terrível: à medida que se aumentam as ameaças biológicas e econômicas em sistemas homogêneos, perdem-se espécies e variedades com potencial de melhorar o desempenho da agropecuária mundial.

Contudo, o quadro de ameaças deve ser transformado em oportunidades, como o resgate de espécies de plantas e animais à agricultura mundial, as quais, restritas aos nichos de domesticação em várias partes do mundo, podem popularizar-se por características agronômicas e alimentares vantajosas (SPEHAR, 2006).

Quando se analisa a interação do ser humano com as plantas ao longo do tempo, percebe-se que são inúmeras as espécies utilizadas. Esti-

ma-se que entre 6 e 7 mil delas tenham sido cultivadas ou coletadas ao longo da co-evolução de seres humanos, plantas e animais.

Para que se tenha uma ideia do contraste, estreitando o número opções na agricultura, basta analisar a atualidade. Quatro cultivos (arroz, trigo, milho, soja) respondem por cerca de 80% dos grãos demandados no mundo.

Torna-se premente organizar ações que permitam conservar e introduzir modificações estratégicas nas espécies de grande impacto na agricultura mundial. Mais ainda deve-se ampliar o número de opções e fugir do ciclo: especialização – insumo e rendimento – vulnerabilidade. O sistema fragiliza-se cada vez mais; qualquer falha, seja por efeito biológico ou ambiental, compromete toda a atividade. De potencial plenitude de oferta, pode-se rapidamente passar à escassez.

Com potencial de crescimento e de participação na produção mundial de grãos, encontram-se milhetos, sorgo, girassol, amendoim, gergelim, amaranto, quinoa, guandu e kenaf, apenas citando algumas de um imenso conjunto de espécies. São inovadoras da agricultura, contribuindo ao seu aprimoramento. Um número imenso de possibilidades existe quando se pensam em cultivos frutíferos, energéticos, de hortaliças, florestais, além de animais.

Espera-se que grande parte deles tenha seu próprio espaço e mercado sem competir com outras já estabelecidas, a depender do aprimoramento nos meios de comunicação modernos. Nos sistemas integrados, as possibilidades de compor os plantios de verão, outono (sucessão) e entressafra irrigada colocam o Cerrado e o Brasil em vantagem relativa às condições de clima temperado.

Focada na diversificação que agrega valor, protege o solo e contribui para uma agricultura sustentável, a pesquisa pioneira na busca de opções para diversificar tem produzido resultados. Exemplificam-se por quinoa e amaranto pseudocereais produtores de grãos. São plantas ainda restri-

tas aos nichos de domesticação, mas que terão oportunidade crescente de contribuir para a diversidade agrícola e alimentar (SPEHAR, 2003; SPEHAR, 2004).

Vale lembrar que a soja e o arroz eram desconhecidos no ocidente, assim como milho e feijão no oriente. Hoje, são importantes componentes da agricultura e da dieta mundial. Ausentes nos atuais sistemas produtivos, os novos e os cultivos menos explorados aumentarão sua presença na agricultura. O interesse sobre eles deverá crescer pela importância alimentar a humanos e outros animais, além da produção de fibras, agrocombustíveis, fármacos e outros produtos.

Convívio com os Seres Vivos

Muito se tem falado sobre o convívio e suas resultantes: as plantas, os animais e os micro-organismos que foram sendo ajustados às necessidades dos seres humanos, após centenas de gerações. Na relação próxima entre eles e a vida ao redor, surgiram espécies domesticadas, sobre as quais passaram a ter controle. Torna-se interessante entender como se desenvolveram os processos e as repercussões. No texto a seguir, relacionam-se os impactos dessa intimidade sobre o progresso humano, as ameaças e as perspectivas. A conservação do acervo das variações, ou recursos genéticos, terá cada vez mais impacto, ainda pouco percebido pela população em geral. Daí finalizar-se com uma perspectiva futura sobre a conservação desse importante legado.

Convívio versus agricultura moderna

O convívio do homem com as plantas e animais precede os registros históricos. Explica o porquê da existência dos seres humanos, que tem persistido há centenas de gerações. Na trajetória evolutiva, tem-se realizado a transferência de um legado, como os elos de uma corrente, às

plantas cultivadas e a todo o conjunto a elas relacionado. Conhecer como e onde surgiram, em associação com a cultura dos povos, é de importância para a valorização das espécies de seres vivos (SPEHAR, 2004). O outro ponto relevante a ser considerado é a evidência de grandes mudanças globais, com reflexos sobre a continuidade desse processo milenar e sobre o manejo dos sistemas produtivos (SPEHAR, 2005).

Na atualidade, o crescente distanciamento entre o agricultor e as plantas ameaça o próprio convívio e as relações de sobrevivência. Desde os primórdios da agricultura, provavelmente iniciada no período Holoceno, intensificou-se a associação de plantas e seres humanos, com indícios da domesticação (GUPTA et al., 2004). As condições climáticas favoráveis possibilitaram a expressão de variabilidade nas espécies existentes. Ao apropriar-se das combinações favoráveis, sobre as quais passa a ter controle, surgem o agricultor e as plantas cultivadas. Iniciou-se o período das grandes transformações nas populações de humanos que, ao deixarem sua vida nômade, criaram as cidades e a civilização (PATERNIANI, 2000).

A conversão de plantas ou animais selvagens em cultivo depende de tempo e dedicação, porque, em geral, apresentam características problemáticas, como presença de substâncias tóxicas, as mesmas que as protegem de pestes; dificuldade na colheita, por deiscência; presença de substâncias indesejáveis na cobertura da semente. Entretanto, por ações repetidas ao longo do tempo, os caracteres desejáveis foram se fixando, por aumento da frequência de alelos favoráveis (DIAMOND, 1997).

Quando se observam as comunidades vegetais associadas ao ser humano, em um contexto mais amplo, não se pode classificar plantas como úteis ou daninhas, nocivas e invasoras. A diferença entre estas e as cultivadas são, em geral, pequenas, como, por exemplo, a existência de sementes dormentes ou impermeáveis (SPEHAR, 2003). Por definição, competem e comprometem o manejo dos cultivos, reduzem o rendimen-

to, danificam a qualidade, ameaçam a renda do produtor, tornando-se indesejáveis. Entretanto, quando classificadas como invasoras, porque dominam áreas que se espera sejam povoadas por espécies úteis, fica a impressão de que são agressivas e danosas, tornando-se grandes ameaças. Enfim, as plantas menos domesticadas tomam, de forma ostensiva, o lugar das plantas de interesse, ameaçando a atividade econômica.

Como tirá-las do papel de vilãs e atribuir-lhes a devida importância, essa é a questão. Ou melhor, como entender que, ao longo do desenvolvimento da agricultura, tornaram-se ameaça. O manejo deficiente do monocultivo, prática comum na atualidade, pode explicar, em grande parte, esse descontrole (SPEHAR, 2005). A história mostra que as comunidades humanas de agricultura tradicional sempre fizeram algum tipo de uso das plantas que estavam ao redor, justamente por haver um convívio.

No princípio da agricultura, supõe-se que a atividade de coleta passou a ceder espaço para a semeadura e o cultivo. Esse fenômeno ocorreu em diversas partes do mundo, criando meios para a organização social (DIAMOND, 1997). No processo de domesticação, aumentava-se a frequência das plantas favoráveis em uma comunidade vegetal, por alguma vantagem funcional, como alimento humano e animal, produção de fibra, ou medicinal. Dentro dessa perspectiva, transportando para os dias atuais, seria como, por exemplo, enriquecer um bioma natural, como o Cerrado, com plantas originárias dele mesmo, que trouxesse alguma das vantagens mencionadas. Essa parece ter sido a característica da agricultura primordial.

No ambiente de origem, nenhuma planta deixava de ter função e o conceito de indesejável, adotado na agricultura moderna, era pouco relevante. Existia outro, o de nociva, pelas consequências negativas causadas a humanos e animais domésticos. Portanto, quase todas tinham alguma utilidade e, de acordo com a importância relativa, eram mantidas

em proporções adequadas. O princípio do equilíbrio, que se encontra demonstrado em áreas naturais, habitadas por grande número de espécies, deveria ser considerado nessa relação de convivência, notadamente nos trópicos (SPEHAR, 2004).

Em contraste com a agricultura tradicional diversificada, nos tempos atuais, com o predomínio de monocultivos, acumulam-se problemas de manejo das plantas que ocorrem onde não são desejadas. As soluções, ainda que complementadas por métodos avançados de melhoramento, como a transgenia, e de controle integrado, não são definitivas (SPEHAR, 2005).

A interação das plantas com o meio tem sido um referencial para o agricultor conhecer o ambiente onde cultiva. Assim, o papel de indicadoras das condições de solo e potencial de resposta pode ser medido pelas plantas daninhas (DALE et al., 1965).

Neste trabalho, procura-se focar a busca do equilíbrio, com base em experiências acumuladas durante os milhares de anos da existência da agricultura. Na abordagem, analisa-se o efeito das ações humanas sobre o ambiente e as plantas, em uma interdependência que se pode chamar de co-evolução. Distúrbios causados pelas ações incontroladas, em grande parte, explicam o desequilíbrio. Pretende-se resgatar o conceito de convívio, para que a evolução continue, de forma participativa, apoiada na diversidade genética e nas ações modernas de ciências como a biotecnologia e a genômica. Assim, o aumento e a manutenção da diversidade causarão impactos positivos, em contrapartida à situação atual.

Convívio, origem das espécies cultivadas e conservação

O convívio marca a história da associação de seres humanos com as plantas (SPEHAR, 2004). Este é compreendido por habitar junto, estar

próximo ou desenvolver uma relação de proximidade durante as fases vitais. Desde a germinação, a emergência, o crescimento e o desenvolvimento, observam-se e analisam os eventos. Esse acompanhamento é peça-chave na domesticação.

A ação de domesticar, ou selecionar plantas favoráveis, por suas características de utilidade, iniciou-se provavelmente no Holoceno, entre 10 a 14 mil anos antes da época atual (GUPTA, 2003). Nesse período, terminou a última grande era glacial e o clima tornou-se favorável ao crescimento das plantas, com espetacular aumento da biodiversidade. Populações de espécies vegetais, que se encontravam circunscritas a territórios pequenos, aumentaram, colonizando as novas áreas. A grande multiplicação originou novas combinações genéticas e mutações. Estas, quando identificadas pelo homem, foram mantidas, dando origem à agricultura.

Entretanto, mesmo com as vantagens do clima ameno, ocorreram períodos curtos de recorrência, com temperaturas menores e estresses de umidade. Essas alternâncias forçaram as populações humanas a se organizar e salvar excedentes para sobreviver períodos de escassez, uma vez que haviam iniciado hábitos sedentários (DIAMOND, 1997).

Em contraste com as que se desenvolvem via seleção natural, preservando características que asseguram a sua sobrevivência no ambiente onde ocorrem, as plantas domesticadas dependem de cultivo. Portanto, nesse ambiente diverso, a tarefa dos seres humanos passou a concentrar-se em explorar a diversidade e a variabilidade genética. Esta foi sendo acumulada pelo processo de seleção das combinações mais favoráveis. As ações humanas, concentradas em preservar as formas satisfatórias aos cultivos, ocorreram em diferentes locais no mundo (PIPERNO; STOTHERT, 2003). A domesticação, identificada pelos históricos, ocorreu durante milhares de anos (Tabela 1).

Tabela 1. Período de domesticação de cultivos estratégicos em relação aos centros de origem.

Cultivo	Espécie	Centro	Período (AEA)[3]
Trigo	*T. monoccocum, T. turgidum, Triticum aestivum,*	Oriente	7.000 – 14.000
Arroz	*Oryza sativa, O glaberrima*	China/Africa	3.500 – 6.500
Milho	*Zea Mays*	América	7.500 – 12.000
Feijão	*Phaseolus vulgaris*	América	5.000 – 7.500
Algodão[1]	*Gossypium arboreum, G. herbaceum*	India	4.000 – 5.000
Algodão[2]	*G. hirsutum, G. barbadense*	América	3.000 – 5.000
Cana-de-açúcar	*Saccharum officinalis*	India	4.000 – 6.000
Batata	*Solanum tuberosum*	América	4.000 – 6.000
Kenaf	*Hibiscus cannabinus*	África	3.000 – 4.000
Quinoa	*Chenopodium quinoa*	América	5.000 – 6.000
Amaranto[1]	*Amaranthus cruentus, A. caudatus, A. hypochondriacus*	América	6.000 – 8.000
Amaranto[2]	*A. gangeticus, A. edulis*	Índia/China	5.000 – 9.000

[1] Amaranto granífero.

[2] Amaranto hortaliça.

[3]AEA – Antes da Era Atual, em anos.

No oriente próximo, surgiram espécies vitais como o trigo, a cevada, a ervilha, a lentilha e a fava. Na China, Índia e Sudeste Asiático, domesticaram-se o arroz, o guandu, a cana-de-açúcar e espécies de algodão (*Gossypium arboreum* e *G. herbaceum*). Na África, foi obtido o milheto, o tef. Na América, foram selecionados o milho, a batata, o tomate, a quinoa, o amaranto, as pimentas e os pimentões, espécies de algodão (*G. barbadense*, *G. hirsutum*). Os relatos mostram que as ações humanas iniciaram há pelo menos 14.000 anos, sob condições de clima ameno e favorável ao surgimento de variabilidade genética (DIAMOND, 1997; GUPTA, 2003). Combinações de temperaturas, umidade e níveis diferenciados de fertilidade do solo resultaram em grande explosão vital no Planeta Terra.

Curiosamente, em todos os locais correspondentes aos centros de origem, ocorrem também espécies aparentadas ou ancestrais das plantas domesticas. Na atualidade, muitas dessas plantas ancestrais são classificadas como invasoras ou nocivas.

Portanto, em última análise, as diferenças entre elas são marcadas, em muitos casos, por alguns genes estratégicos, mantidos ou eliminados no processo; em outros, por fusão de genomas, como o trigo, o amaranto, a quinoa. Na Tabela 2, encontram-se algumas espécies domesticadas e seus respectivos ancestrais que, quando ocorrem em campos de cultivo, são classificados como plantas daninhas.

A fusão de genomas ou poliploidização de espécies ancestrais ocorreu num período anterior ao surgimento do ser humano, há milhões de anos. Nesse mesmo período geológico, evoluíram diversas espécies, precursoras das plantas domesticadas, acumulando mutações e expressando grande variabilidade genética. Desde que se iniciou como agricultor, o ser humano passou a buscar algum tipo de domínio sobre as plantas ao seu redor. Isso quer dizer que, ao acompanhar o seu ciclo biológico, por repetidas gerações, foram realizadas seleções que resultaram em controle sobre as várias etapas do ciclo vital (SPEHAR, 2003; SPEHAR et al., 2003).

Tabela 2. Cultivos domesticados com as respectivas espécies ancestrais e proximidade genética.

Cultivo	Espécie	Espécie ancestral	Proximidade genômica
Trigo	*Triticum aestivum*	*T. taurchii, Haynaldia villosa*	Elevada/intermediária
Arroz	*Oryza sativa*	*O. rufipogon*	Elevada
Milho	*Zea Mays*	*Zea mexicana*	Elevada
Feijão	*Phasolus vulgaris*	*P. coccineus, P. acutifolius*	Elevada/intermediária
Aveia	*Avena sativa*	*A. canariensis*	Elevada
Sorgo	*Sorghum bicolor*	*S. sudanense*	Elevada
Kenaf	*Hibiscus cannabinus*	*H. sabdariffa*	Baixa
Cana-de-açúcar	*Sacharum officinalis*	*S. robustum*	Intermediária
Batata	*Solanum tuberosum*	*Solanum phureja*	Elevada
Quinoa	*Chenopodium quinoa*	*C. album, C. nutallie*	Baixa/elevada
Amaranto	*Amaranthus cruentus, A. caudatus, A. hypochondriacus*	*A. spinosus, A. retroflexus, A. viridis, A blitum*	Baixa/elevada/elevada/baixa

Não é necessário se reportar eventos históricos, distantes de nossa época, para entender como as plantas se tornam domésticas. Ainda na atualidade, persiste a agricultura tradicional, nos centros de origem das principais espécies conhecidas. Na América do Sul, encontra-se a origem da batata, do amendoim, da mandioca e de outras indicadas para a agricultura do futuro, como a quinoa, o amaranto (SPEHAR, 2003; SPEHAR, 2004). Na análise das atividades humanas associadas à diversidade existente, podem-se medir os efeitos da domesticação, salvando variedades de plantas. Pode-se mesmo estabelecer relações históricas das comunidades, onde também se encontram espécies do mesmo gênero de domesticação. As mesmas que podem tornar-se invasoras em cultivos comerciais.

Ao longo da história, o cultivo passou a tomar lugar e as plantas desejadas, dependentes do manejo, deixavam de colonizar as áreas de forma espontânea. Um dos exemplos mais antigos que se tem notícia entre o limite de planta daninha e cultivada registra-se em *Amaranthus* spp., Amaranthaceae. Em áreas de pesquisa arqueológica, vilas de pescadores datadas de mais de 10.000 anos, encontrou-se vestígio de sua presença junto aos objetos humanos (BRENNER; WILLIAMS, 1995). Esse evento mostra que a associação tinha importância alimentar.

Como fato relevante, tem-se que a diferença a separar espécies invasoras ou silvestres das cultivadas do gênero *Amaranthus* é a coloração da semente. As que apresentam semente clara não têm dormência, em contraste com as que apresentam sementes pretas, que se armazenam no solo, germinam gradativamente e colonizam áreas sob cultivo. As domesticadas, para se propagarem, precisam da interferência humana. Esse é um exemplo de um controle sobre a propagação, oriundo de pequena modificação genética (SPEHAR, 2003).

Essa característica é condicionada por apenas um par de genes (BRENNER; WILLIAMS, 1995). Portanto, o limite entre elas é mui-

to tênue. Nesse gênero, com espécies domesticadas em várias partes do mundo, invariavelmente os ancestrais apresentam sementes de coloração escura, dormentes. Isso sugere que mutações estratégicas têm ocorrido ao longo de milhares de anos e recuperadas em comunidades tradicionais (SPEHAR, 2004).

Mutações semelhantes têm sido encontradas em outras espécies como a soja (*Glycine max*), o trigo (*Triticum aestivum*), a aveia (*Avena sativa*), a batata (*Solanum tuberosum*). Ainda que houvesse necessidade de controle, nos primórdios da agricultura, algum tipo de dormência ou rusticidade era preservado. As sementes dormentes apresentavam maior durabilidade e podiam ser armazenadas por longo prazo, ou a ressemeadura natural era de interesse, pois aumentava a frequência dos indivíduos desejáveis, diminuindo-se gradativamente a presença das plantas concorrentes. Em muitos casos, a deposição de substâncias tóxicas as tornava protegidas de pragas, como as saponinas (SPEHAR, 2003).

Portanto, diversas espécies de plantas têm sido associadas aos sistemas agrícolas. Estes evoluíram de um contato mais íntimo do ser humano com as espécies vegetais que ocorriam sob cultivo intensivo em pequenas áreas, para uma agricultura extensiva, propiciada pela revolução industrial, com aumento no uso de máquinas, há pelo menos 150 anos. Nesse processo, muitas espécies secundárias, com as quais se convivia, passaram a competir por espaço, luminosidade, água e disponibilidade de nutrientes nos cultivos de interesse econômico. Isso gerou a necessidade de intensificar o controle.

A tentativa de eliminá-las dos cultivos econômicos baseou-se ainda em observações da natureza. As comunidades tinham a percepção de que certas plantas inibem o crescimento de outras. Daí surgiu o conceito moderno de herbicida, processo ou substância que impede outras plantas de crescer, além das desejáveis.

Necessidade de controle e domesticação

Com características que tornavam os cultivos cada vez mais dependentes do homem, cresceu o controle sobre as plantas coadjuvantes, de menor interesse ou competidoras. O aumento na proporção de plantas em uma comunidade tornou-se função da interferência em características estratégicas. Isso levou a selecionar espécies com grande produção de sementes, sem dormência, que germinassem prontamente. Com aumento na proporção, há um predomínio, com maior vantagem competitiva, na colonização de área (HARLAN, 1976).

As principais características que separam as plantas daninhas ou silvestres das cultivadas estão apresentadas na Tabela 3. Essas são estratégicas no controle, seja no crescimento seja no desenvolvimento.

Tabela 3. Características de separação entre plantas silvestres e domesticadas.

Característica	Planta selvagem	Planta domesticada
Altura de planta	Elevada	Reduzida
Ramificação	Intensa	Pequena
Maturação	Indefinida	Coincidente
Semente	Dormente	Não-dormente
Deiscência	Presente	Ausente
Trilha	Difícil	Fácil
Germinação	Não-sincronizada	Sincronizada
Pelos, espinhos	Presentes	Ausentes
Toxinas	Presente	Ausente

Nos sistemas agrícolas primitivos, o controle das plantas competidoras tinha menor peso, ainda que houvesse possibilidade de perda. Na agricultura tradicional ou de subsistência que persiste nos dias atuais, a colheita é manual. A presença de plantas de outras espécies, dentro de limites, não tem se constituído em problema. Ademais, na agricultura moderna, com semeadura, tratos culturais e colheita mecanizada, o controle é uma necessidade premente.

A impressão que se tem é que as plantas de menor interesse imediato, com dormência, não sofreram alteração de estrutura em suas populações naturais. Entretanto, pudessem os agricultores dos primórdios prever o futuro, teriam selecionado, nas plantas do agroecossistema, por características de controle. Isso tornaria possível estabelecer uma relação entre dormência e sua ausência que fosse conveniente na proporção dos indivíduos em uma comunidade. E ter-se-ia evoluído para outros modelos de convívio com as plantas.

Contudo, poder-se-ia, com base nas exigências climáticas, sincronizar o desenvolvimento das espécies, para controlar sua interferência nos cultivos econômicos. Assim, as plantas seriam adaptadas às condições que melhor se desenvolvem, evitando-se coincidência e competição.

Em decorrência do grande salto entre a agricultura de pequena escala e a praticada em grandes áreas, a convivência tornou-se mais difícil. A solução para impedir a colonização de áreas agrícolas por plantas de menor expressão intensificou o uso de métodos químicos, empregando-se herbicidas de modo indiscriminado e cada vez mais intenso.

Ampliando o conceito de espécies aliadas

A reação natural, diante da ocorrência de plantas onde não sejam desejadas, como picão ou leiteiro em uma lavoura de soja, é a sua eliminação, antes que se torne ameaça. O raciocínio comum é de que elas sufocam a cultura, competindo por água, luz e nutrientes, além de reduzirem a qualidade do produto final, na colheita. Desde a antiguidade, tem se desenvolvido esse conceito, baseado nos males causados por elas.

No entanto, há conceitos mais amplos ou favoráveis, como o de que planta daninha é uma flor disfarçada, como dito anteriormente.

As plantas que colonizam as áreas agrícolas, modificadas pelo homem, adaptam-se às novas condições ambientais. Daí, a tornarem-se in-

vasoras, depende do manejo a que venham ser submetidas. Entretanto, vale a pena salientar alguns dos pontos favoráveis da sua presença.

Muitas plantas consideradas silvestres protegem a superfície do solo, principalmente no período da seca no Cerrado, quando a cobertura do solo é pobre. Pelo substrato e atividade radicular que produzem, podem afetar positivamente a meso e micro flora e fauna do solo, tendo efeito de controle biológico sobre insetos-peste.

Acrescenta-se, ainda, que algumas espécies apresentam sistema radicular vigoroso e tolerância à seca, colonizando áreas com a umidade residual que as plantas cultivadas não conseguem. Contribuem para quebrar camadas compactadas e, em solos com fertilidade corrigida, podem atingir profundidades surpreendentes, aumentando drenagem, aeração e deposição de matéria orgânica nas camadas inferiores do solo. Esse fator é de relevância em ambientes como o do Cerrado. Os seus solos são diretamente dependentes da matéria orgânica para atingir estabilidade de produção.

As plantas que compõem um sistema sob cultivo podem ainda recuperar nitrogênio e potássio presentes nas camadas profundas, não atingidas pelas raízes das plantas cultivadas, e trazê-los à superfície do solo. As diferentes espécies podem ser acumuladoras de nutrientes em solos deficientes e criar condições favoráveis para os cultivos subsequentes. Há exemplos como o da deficiência de zinco em milho ser contornada quando se empregam plantas acumuladoras ou as que disponibilizam nutrientes durante período de descanso ou rotação/sucessão (ROGERS et al., 1939; AE et al., 1994). Plantas podem ser empregadas como indicadoras de depósitos minerais como cobre e selênio (BROOKS, 1972) e da qualidade da água subterrânea.

O valor das plantas silvestres pode estar na sua habilidade de revelar informação sobre as propriedades dos solos sob cultivo, em relação a níveis de nutrientes, pH e camada de compactação. Há pelo menos 80

anos, já se observavam plantas como indicadoras das condições ambientais. Segundo Frederick Clements (1920), cada planta é o produto do meio em que cresce e é, portanto, a sua medida. Como consequência, cada resposta fornece uma pista sobre fatores a serem estudados. No Brasil, há indicações de que aumentos na frequência de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) em lavouras podem estar ligados à deficiência de molibdênio, enquanto a guanxuma (*Sida rhombifolia*) indica solo compactado (PRIMAVESI, 2005).

Certas plantas são mais adaptadas a solos com pH mais elevados; outras, a solos ácidos; e essas particularidades têm sido observadas desde a antiguidade. Fator importante na diversidade, plantas silvestres desenvolvem ecótipos que diferem uns dos outros em morfologia e exigências de condições de solo. Algumas apresentam maior tolerância à acidez, por exemplo, enquanto outras são eficientes na utilização de elementos minerais. Essas diferenças podem ser aproveitadas; e, dessa forma, seleções adicionais podem aumentar a magnitude, tornando-as indicadoras ou fonte de genes para tolerância.

As plantas melhor expressam seu papel de indicadoras quando crescem em comunidade, pelas relações de similaridade que existem entre elas. As características morfológicas das plantas são indicativas de condições físicas e químicas do solo. O crescimento vigoroso de leguminosas pode ser um indicativo da falta de nitrogênio, tanto quanto não leguminosas podem apresentar-se com menos vigor e folhas amarelas no mesmo ambiente.

Agricultores que observam vão verificar a dinâmica em populações de plantas silvestres, mudando suas características em função das práticas agrícolas e outras ações humanas. Portanto, dentro de limites, é possível transformar a diversidade em aliada (SPEHAR, 2006).

O fator-chave de sucesso passa a ser o manejo, com práticas que mantenham as populações sob controle. A identificação das espécies pre-

sentes servirá de base para um planejamento de manejo de solo e de cultivos, com maior probabilidade de acerto. Mais importante mantêm-se a diversidade e, consequentemente, a variabilidade genética de sistemas vegetais.

Interações entre as plantas

Em áreas agrícolas, a impressão que as plantas associadas deixam é que causam perdas, por isso são indesejáveis em um cultivo econômico. Potencialmente sua ocorrência causa competição com os cultivos, o que pode resultar em perda de rendimento. Entretanto, essas plantas coadjuvantes podem ter efeito benéfico sobre eles. Suas ações positivas podem compreender multiplicação de micorrizas; diminuição de impacto do monoculivo, pela descontinuidade; efeito alelopático sobre outras espécies, limitando o seu crescimento; e fixação de nitrogênio. Muito pouco estudo existe sobre esse efeito benéfico (SPEHAR, 2006).

A presença de plantas multiplicadoras de micorrizas e fixadoras de nitrogênio podem ser aproveitadas na agricultura. Assim, quando o seu efeito é positivo para os cultivos, deve-se considerar o seu manejo, de tal forma que os benefícios superem possíveis danos causados por competição. Em uma infestação, é possível, via o manejo de cultivos e do solo, dirigir a população para distribuição de espécies e densidades que estejam sincronizadas, com intensificação na produção de biomassa na entressafra, após a colheita.

A alelopatia precisa ser mais bem entendida nas relações entre espécies de plantas co-habitantes de uma mesma área. Estudos indicam ser possível manter populações sob controle, pelos efeitos inibidores de umas sobre as outras (BIRKETT et al., 2001).

Todas as ações aqui relatadas refletem a importância de se recuperar e manter a biodiversidade. Sem ela, sucumbem os sistemas naturais e aqueles criados pela interferência humana.

O Convívio do futuro

O grande desafio na conservação de recursos genéticos será resgatar a coexistência realizada durante os milhares de anos, a fim de continuar o processo de domesticação. A grande vantagem que possui o ser humano na atualidade é o crescente conhecimento de como funcionam as comunidades vegetais e de como as espécies reagem às condições ambientais em que vivem. O estabelecimento de limites biológicos possibilitará descobrir formas de interferência e manejo, dando oportunidade a sobrevivências de novas combinações genéticas (SPEHAR, 2006).

Há indicações de que espécies associadas evoluem rapidamente quando presentes nos cultivos. Isso sugere que se deva melhorar o conhecimento sobre os mecanismos e as taxas de adaptação, possibilitando prever esse processo para melhor intervir (SNOW et al., 2001). Hibridações espontâneas, entre espécies cultivadas e silvestres próximas, podem resultar na transferência de genes que condicionam adaptabilidade e dessa forma criar novas invasoras. Esse fenômeno pode ocorrer com várias espécies cultivadas, como exemplos na família das crucíferas, asteráceas e amarantáceas (SNOW et al., 2001; SPEHAR, 2004).

Em muitos casos, esses híbridos mostram-se menos adaptados, devido a problemas fisiológicos e citogenéticos, produzindo menor número de descendentes, ainda que os genes das espécies domesticadas persistam nas populações silvestres derivadas (SNOW et al., 2001). Portanto, num ambiente cada vez mais alterado pelo homem, com predomínio de monocultivos, há ameaças de escape de genes obtidos por melhoramento genético convencional ou por transgenia. Esses escapes contribuem para a geração de novas combinações genéticas nas espécies silvestres aparentadas, colaborando para a evolução dos genomas, como discutido no capítulo “Bases Genéticas da Diversidade”.

Ademais, pode-se pensar que genes para tolerância a fatores restritivos do ambiente, como acidez do solo, elevados níveis de alumínio, efi-

ciência na utilização e na disponibilidade de nutrientes, podem ser transferidos às espécies cultivadas por introgressão. Um exemplo que se pode apresentar é o do amaranto cultivado. Cruzamentos interespecíficos de *A cruentus* x *A. retroflexus* ou *A. viridis* podem permitir a transferência de genes de adaptação, para melhor adaptar o cultivo a condições adversas (SPEHAR, 2004). Por cruzamentos recorrentes, pode-se recuperar o conjunto de genes favoráveis existentes nas espécies domesticadas.

O paradoxo evidente é a interrupção do convívio à medida que se aperfeiçoam as técnicas para a agricultura. Isso ainda ocorre em muitas comunidades essencialmente rurais, que tendem a se extinguir, por constante migração das populações mais pobres para os centros urbanos. Portanto, com o distanciamento, reduz-se o contato, perdendo-se oportunidade de acompanhar, entender e prevenir eventos indesejáveis.

Como agravante, as espécies cultivadas têm sido cada vez mais especializadas, com estreita base genética (SPEHAR, 1998). Esses dois fatores restritivos ao surgimento de variabilidade associam-se à diminuição populacional e de frequência das espécies silvestres nas populações vegetais, em áreas sob cultivo. As chances de ocorrerem mutações favoráveis e de, caso ocorram, serem recuperadas por seleção ficam reduzidas a níveis comprometedores.

Nesse ponto, é importante refletir sobre as possibilidades de contornar limitações impostas pela agricultura moderna. Uma delas é o estabelecimento de áreas povoadas com espécies silvestres existentes, para manutenção de bancos de genes e estudos da sua biologia. Seria como "cultivar" plantas silvestres (SPEHAR, 2006). Uma alternativa seria a coleta de amostras de sementes de ecótipos das diversas espécies, seguida pela sua caracterização genética. Estudos sobre dinâmica populacional desses ecótipos, em diferentes condições de solo e de associação com espécies cultivadas e silvestres concorrentes, deverão contribuir para melhor entender a dinâmica e racionalizar o seu manejo. A função de indicadoras

dos condicionantes de solo deve ser mais bem compreendida e explorada. Espécies e comunidades devem ser estudadas dentro dessa perspectiva.

Uma ação que representa quebra de paradigma será a identificação de genes de domesticação nas espécies silvestres. A seleção de tipos menos agressivos, sobre os quais se tenha algum tipo de controle nas fases biológicas, pode contribuir para mudar populações de áreas infestadas, elevando o manejo integrado.

O convívio na agricultura moderna deve incorporar o uso de métodos integrados de controle. O princípio a nortear essas ações baseia-se na busca de um equilíbrio populacional, sem que haja predomínio de espécies. Aqui se soma a diversificação, em sistemas integrados, com monitoramento da frequência e distribuição de espécies em áreas de cultivo. Como resultante, ter-se-á uma agricultura dinâmica, em que agrônomos, biólogos e ecologistas geram conhecimento a partir de observações, experimentação e pesquisa participativas com a agricultura.

Finalizando, o convívio dos seres humanos com as plantas precede o surgimento da agricultura. Esta decorreu da domesticação, ou fixação de genes favoráveis ao homem e desfavoráveis às variedades originadas, que passaram a depender de cultivo. O cultivo tem evoluído há milênios, em condições de intenso convívio, resultando em coevolução. Essa ação estratégica sofre grandes ameaças na agricultura moderna em que todas as operações se realizam com máquinas, sem acompanhamento dos cultivos. Na quase ausência de convívio, perdem o agricultor e o ambiente, em decorrência do monocultivo e mau manejo do solo. Sem a convivência, ou seja, o acompanhamento das fases vitais na comunidade vegetal, como se pode traçar uma perspectiva futura para uma agricultura em equilíbrio, apoiada na diversidade?

Considerações Finais

Como foi visto, a grande ameaça é a perda da biodiversidade. Está em várias frentes, como a perda de habitat pela incorporação de áreas ao processo produtivo. Isso parece inevitável, pois a população mundial deve crescer e, com ela, a demanda por mais alimentos e matérias-primas da agropecuária. Ademais, agricultores familiares tradicionais, em centros de origem e de diversificação, migram para os centros urbanos pressionadas por capacidade produtiva e pobreza. Deixam para trás, com grande chance de perdas, populações e variedades de plantas desenvolvidas localmente. São legados de gerações ameaçados de perda irreparável. Os agricultores comerciais são altamente especializados e convivem pouco com as plantas que cultivam. Essas são homogêneas e não ensejam seleção. Dessa forma, não há avanços que ocorram por conta desses agricultores.

Os riscos de se extinguirem espécies nos biomas, antes que seu germoplasma seja devidamente amostrado, é muito grande. Contudo, espécies menos exploradas, como quinoa, amaranto, kenaf, tef e gergelim, sofrem por limitações de recursos a serem aplicados na geração e no resgate das variações genéticas. Nas espécies com interesse econômico e estratégico de segurança alimentar, há esforços concentrados. Nesses casos, os institutos internacionais, como o Centro Internacional de Melhoramento de Milho e trigo (Cimmyt), Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat), Centro Internacional de Pesquisa em áreas Secas (ICARDA), Instituto de Pesquisas Internacional para culturas dos Trópicos Semiáridos (Icrisat), Instituto Internacional de Pesquisa em Arroz (IRRI), por exemplo, concentram-se em coleta, geração e conservação de germoplasma de trigo, milho, arroz, feijão, mandioca, grão-de-bico, lentilha, ervilha, cártamo, guandu, sorgo, milhetos, entre outros. Porém, isso é muito pouco, comparado com o número de espécies com potencial de integrar a agricultura mundial.

No Brasil, em virtude de sua importância econômica, o germoplasma de soja é amplo, representando a variabilidade. Em cana-de-açúcar, uma planta de propagação clonal e que se reproduz por sementes, há programas de formação de banco de germoplasma, via hibridações. Os grandes cultivos de arroz, feijão, trigo e mandioca contam com o apoio de centros internacionais.

Entretanto, nos grandes biomas brasileiros, a diversidade tem sido pouco estudada e ainda menos conservada. As espécies endêmicas têm recebido escassos recursos de pesquisa. Muitas são ainda extrativas, como a *Dimorphandra mollis* (faveira), o *Cayocar brasiliensis* (pequi), o *Dypterix alata* (baru) e o *Paepalanthus* spp. (SANO et al., 1999).

Essas e outras espécies, em especial no Cerrado, encontram-se ameaçadas de extinção antes mesmo de se descobrirem suas utilidades. O que se espera é o desenvolvimento de uma consciência conservacionista. Em princípio, quando se mantém plantas em um bioma, não há distinção quanto ao uso. A conservação in situ possibilita a manutenção de espécies. O importante é que a amostragem seja ambiental, deixando-se reservas representativas de cada particularidade dentro dos biomas. Assim, no Cerrado, ocorrem populações em direta associação com o meio (solo e clima). Estes devem ser norteadores na definição de áreas. As espécies originárias desses biomas, que têm potencial econômico identificado, estão sujeitas a duas condições de conservação: uma in situ, como sugerido; outra ex situ, amostrando-se populações e indivíduos cujos propágulos (sementes ou partes vegetativas) serão multiplicados em coleções de germoplasma.

Na definição de ações para conservar espécies, será imprescindível a associação de biólogos, agrônomos, ecologistas, entre as áreas das ciências. Na realidade, agronomia pode ser definida como aplicação de conhecimento biológico, visando gerar renda. Em síntese, a reunião de especialistas deverá aumentar o conhecimento sobre a ocorrência e dispersão de espécies nos biomas. Estudos sobre a sua biologia permitirão

conhecer as formas de reprodução e identificar a diversidade. Esta pode ser amostrada para aproveitamento em programas de seleção para cultivo e manutenção de bancos de germoplasma.

Sem ações coordenadas e pró-ativas, como se sugere, os riscos são muito grandes de se perder, para sempre, espécies de plantas, animais e micro-organismos. Até o século 20, as ameaças estavam relacionadas à baixa eficiência produtiva e à busca por soluções a problemas antigos. Estes consistiam na necessidade de aumento na produção de alimentos e matéria-prima, associada à defesa contra doenças e pragas que incidam diretamente sobre ele ou sobre as plantas e animais. Na atualidade, boa parte dos problemas é consequente das próprias ações humanas. O domínio do homem sobre o meio o torna ao mesmo tempo poderoso e vulnerável. O lado positivo é sua capacidade criativa em contornar ameaças à sobrevivência.

O ser humano pode solucionar problemas como emissão de gases do efeito-estufa, via agricultura. Essa mesma atividade se encontra ameaçada em um beco de alta especialização, como vimos. Com os biomas sendo destruídos, perdem-se espécies. Com elas, o germoplasma correspondente. Sem seus genomas, combinações de genes deixam de existir. As mesmas que poderiam socorrer o homem na diversificação econômica dos sistemas produtivos e que geram substâncias úteis da prevenção e cura de doenças. Ainda que sua criatividade seja imensa e surpreenda, na atualidade, antes mesmo que se passe uma geração, existe um dilema. Como recriar uma espécie perdida?

É possível que, nos próximos séculos, sejamos capazes de resgatar espécies que se extinguiram antes da origem do ser humano. Entretanto, mais racional será impedir que desapareçam aquelas que ainda esperam por uma convivência (SPEHAR; CARVALHO, 2006). Certamente será um trabalho hercúleo, que consumirá grandes quantidades de recursos, tentar resgatar o que se perdeu. Com a perda, limitam-se as possibilidades de sobrevivência com ameaças crescentes à humanidade, pois os genomas são as bases da plasticidade da vida.

Referências

AE, N.; OTANI, T.; ARIHARA, J. Effects of specific compounds exuded from roots on phosphorus nutrition. In: JOHANSEN, C.; LEE, K. K.; SHARMA, K. K.; SUBBARAO, G. V.; KUENEMAN, E. (Ed.). Genetic manipulation of crop plants to enhance integrated nutrient management in cropping systems – 1: phosphorus. 1994. Patancheru, India. **Proceedings...** Patancheru: FAO/IAEA/ICRISAT, 1995. p. 117-128.

BAR-YOSEF, O.; KISLEV, M. Early Farming Communities in the Jordan Valley. In: HARRIS, D. R.; HILLMAN, G. C. (Ed.). **Foraging and farming**: the evolution of plant exploitation. London: Unwin Hyman, 1989. p. 632-642.

BIRKETT, M. A.; CHAMBERLAIN, K.; HOOPER, A. M.; PICKETT, J. A. Does allelopathy offer real promise for practical weed management and for explaining rhizosphere interactions involving higher plants? **Plant and Soil**, v. 232, n. 1-2, p. 31-39, 2001.

BRENNER, D.; WILLIAMS, J. T. Grain amaranth (*Amaranthus* species) In: WILLIAMS, J. T. (Ed.). **Underutilized crops**: cereals and pseudocereals. London: Chapman & Hall, 1995. p. 128-186.

BRIM, C. A. A modified pedigree method of selection in soybean. **Crop Science**, v. 6, p. 220, 1966.

BRITEZ, R. M.; WATANABE, T.; JANSEN, S.; REISSMANN, C. B.; OSAKI, M. The relationship between aluminium and silicon accumulation in leaves of faramea marginata (rubiaceae). **New Phytologist,** v. 156, p. 437-444, 2002.

BROOKS, R. R. **Geobotany and bio-geochemistry in mineral exploration**. New York: Harper and Row,1972. 290 p.

CLEMENTS, F. E. **Plant indicators**: the relation of plant communities to process and practice. Washington, EUA: Carnegie Institute,1920. 388 p. (Publication n. 290).

DALE, H. M.; HARRISON, P. J.; THOMSON, G. W. Weeds as indicators of physical site characteristics in abandoned pastures. **Canadian Journal of Botany**, v. 43, p. 1319-1327, 1965.

DARWIN, C. **On the origin of species by means of natural selection (or the preservation of favoured races in the struggle for life)**. London: Grant Richards, 1902. 454 p.

DIAMOND, J. Location, location, location: The first farmers. **The American Association for the Advancement of Science**, v. 278, n. 5341, p. 1243-1244. 1997.

GOFF, S. A.; RICKE, D.; LAN, T.; PRESTING, G.; WANG, R. et al. A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). **Science**, v. 296, n. 5565, p. 92-100, 2002.

GUPTA, A. K. Origin of agriculture and domestication of plants and animals linked to early Holocene climate amelioration. **Current Science**, v. 87, n. 1, p. 1-6, 2004.

GUPTA, A. K.; ANDERSON, D. M.; OVERPECK, J. T. Abrupt changes in the Asian southwest monsoon during the Holocene and their links to the North Atlantic Ocean. **Nature**, v. 421, p. 354-357, 2003.

HARIDASAN, M. Aluminium accumulation by some cerrado native species of central Brazil. **Plant and Soil**, v. 65, n. 2, p. 265-275, 1982.

HARLAN, J. R. Genetic resources in wild relatives of crops. **Crop Science**, v. 16, p. 329-333, 1976.

PIPERNO, D. R.; STOTHERT, K. E. Phytolith evidence for early holocone cucurbita domestication in southwest Ecuador. **Science**, v. 299, n. 5609, p. 1054-1057, 2003.

PRIMAVESI, A. M. Plantio direto e sustentabilidade. In: ENCONTRO DE PLANTIO DIREITO NO CERRADO, 8., 2005, Tangará da Serra. **Anais**... Tangará da Serra: Gráfica e Editora Sanches, 2005. p. 31-42.

ROBINSON, D. M. **The political emerson**: essential writings and social reform. Boston, MA: Beacon Press, 2004.

ROGERS, L. H.; GAIL, O. E.; BARNETTE, R. M. The zinc content of weeds of volunteer grasses and planted land covers. **Soil Science**, v. 47, p. 237-243, 1939.

SANO, S. M.; VIVALDI, L.; SPEHAR, C. R. Diversidade morfológica de frutos e sementes de baru (*Dypterix alata* Vogt.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 513-518,1999.

SNOW, A.; UTHUS, K. L.; ULLEY, T. M. C. Fitness of hybrids between weedy and cultivated radish: Implications for weed evolution. **Ecological Applications**, v. 11, n. 3, p. 934-943, 2001.

SPEHAR, C. R. (Ed.). **Amaranto**: opção para diversificar a agricultura e os alimentos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 145 p.

SPEHAR, C. R. (Ed.). **Quinoa**: alternativa para a diversificação agrícola e alimentar. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 104 p.

SPEHAR, C. R. Caminhando pelo Cerrado. **Jornal da Ciência**, Disponível em: <http://www.jornaldaciencia.org.br/Detalhe.jsp?id=47708>. Acesso em: 10 fev. 2008.

SPEHAR, C. R. Conquista do Cerrado e consolidação da agropecuária. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, Agricultura e Sociedade.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 195-226.

SPEHAR, C. R. Diferenças morfológicas entre a*maranthus cruentus*, cv. BRS Alegria e as plantas daninhas *a. hybridus*, *a. retroflexus*, *a. viridis*, *a. spinosus*. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 481-485, 2003.

SPEHAR, C. R. Production systems in the savannas of Brazil: Key factors to sustainability. In: LAL, R. (Ed.). **Soil quality and agricultural sustainability**. Chelsea, Michigan: Ann Arbor Press, 1998. p. 301-318.

SPEHAR, C. R.; PEREIRA, R. C. Convivendo com as plantas daninhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília, DF. Brasília, DF, 2006. p. v-xx.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. B.; NASSER, L. C. B. Diferenças entre *Chenopodium quinoa* e a planta daninhas *Chenopodium album*. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 487-491, 2003.

3

Bancos de Germoplasma: importância e organização

Renato Ferraz de Arruda Veiga
Wilson Barbosa
Antonio Fernando Caetano Tombolato
José Francisco Montenegro Valls

Introdução

O interesse do ser humano em manejar animais e plantas surgiu mais intensivamente há cerca de dez mil anos, a partir de um período em que os hábitos nômades, de serem caçadores-coletores, alteraram-se. Desde então, o homem se fixou por períodos mais longos em determinados territórios, tornando-se criador de animais e cultivador de plantas, práticas essas essenciais à sua nova postura de sobrevivência.

Ao adquirir o hábito da agropecuária, o homem foi domesticando e selecionando as espécies para o meio-ambiente em que se fixava. Com o domínio desses recursos genéticos, e com o aprendizado de seu uso como "moeda de troca", surgiu a necessidade de colecionar espécies vegetais, animais e microorganismos para uso presente e futuro.

Nos tempos mais recentes, o melhorista genético, criador de novos materiais elite, possui como instrumento, para esse fim, uma "coleção de trabalho". Ela é composta por um número reduzido de acessos, de uma

determinada espécie, que possuem características específicas de interesse ao programa de melhoramento. Essas coleções de trabalho se caracterizam principalmente pela inexistência do compromisso de cunho conservacionista com seus acessos.

No entanto, quando o melhorista genético necessita de mais genes que confiram outras características de interesse às suas novas pesquisas, lança mão da introdução de acessos de um Banco Ativo de Germoplasma (BAG). Esse banco se caracteriza por manter um número de acessos muito maior que o da coleção de trabalho, os quais são representativos da variabilidade genética da espécie e (ou) gênero, é mantido com fins conservacionistas, sem efetuar descartes de seus acessos. Esses acessos são conservados, regenerados, caracterizados e disponibilizados para o uso e intercâmbio. Geralmente, os BAGs se encontram localizados em áreas públicas de instituições de pesquisa, ensino e extensão agropecuária, dos governos federal e estadual, destinando-se às pesquisas para abastecimento do sistema agrosilvipastoril.

Importância

O avanço da agropecuária, notadamente sobre áreas de vegetação preservada, transformou esse processo, considerado, em épocas passadas, "herói" da sobrevivência, em principal "vilão", no presente, por ter se tornado o principal agente causador da rápida erosão da biodiversidade no planeta. Com essa perda, em especial da diversidade vegetal, provoca-se o desaparecimento dos habitats que mantêm a vida animal e microbiana; enfim, o "feitiço volta-se contra o feiticeiro" e o homem destrói sua própria cadeia alimentar, como discutido no capítulo "Biodiversidade e Recursos Genéticos".

Hoje, os BAGs transformaram-se no "barro que Deus utilizou para a criação do homem", pois são neles que se encontram armazenados os genes que podem devolver parte da vida ao planeta. Desses BAG, saem

os genes das novas cultivares, das espécies alternativas, das espécies do repovoamento e revegetação de áreas degradadas, entre outros fins.

Os BAGs, devidamente constituídos, são ferramentas valiosas à preservação in situ e à conservação ex situ do máximo possível da variabilidade genética existente na natureza. Ademais eles são vitais à pesquisa científica com plantas, animais ou microorganismos.

No entanto, para atingir seus objetivos, os BAGs precisam ser devidamente manejados, possibilitando fácil acesso ao material genético de interesse às pesquisas científicas, tais como genes de resistência às pragas e aos estresses ambientais, genes de alta produtividade e precocidade e de fenótipos dos mais diversificados, entre tantas outras características desejáveis à agropecuária.

Organização

Histórico

O primeiro grande banco de germoplasma de plantas foi instalado por Nicolai Ivanovich Vavilov, na União Soviética, antes da Segunda Guerra Mundial. Outros BAGs foram estabelecidos nos Estados Unidos da América (1958), Gana (1964), Japão (1996), Canadá (1970), Alemanha (1970), Itália (1970), Polônia (1971), Turquia (1972), Brasil (1974), Etiópia (1976), etc.. Hoje, o mais conhecido e mais recente é o de Svalbard, na Noruega, em plena montanha gelada no Ártico, construído para salvaguarda das espécies de plantas mundiais de uma possível catastrofe mundial.

No Brasil, sem considerar a denominação "banco de germoplasma", as ações de conservação de recursos fitogenéticos, de que se tem notícia, deram-se por ação de estrangeiros como Maurício de Nassau, no século 17, com a criação de um Jardim Zoobotânico no Recife, PE, o qual foi

destruído após a saída dos holandeses do Brasil. Também, por ordem da D. Maria I, ao criar o primeiro Jardim Botânico no Brasil, em Belém, PA, em 1798, com o intuito de fornecer plantas úteis para Portugal. Já com a instalação da família real no Brasil, em 1908, por ordem do Regente D. João, criou-se o mais tradicional Jardim Botânico do Brasil, o atual Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Ainda no Brasil, pode-se dizer que outro marco nas atividades de preservação e de conservação de plantas ocorreu em 7 de julho de 1902, quando se comemorou o primeiro dia nacional da árvore. Esse evento, coordenado por João Pedro Cardoso e Alberto Leofgren, em Araras, teve a ativa participação do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), entre outras instituições da época, e foi preparado principalmente em resposta ao grande desmatamento que ocorria no Estado de São Paulo.

No entanto, foi somente a partir de 1930 que se iniciaram as primeiras coleções de plantas ex situ, para dar suporte ao melhoramento genético, com ênfase nos cereais, nas hortícolas e nas plantas estimulantes. Nesse caso, também o Estado de São Paulo foi o pioneiro nesse processo, por intermédio do IAC e da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq/USP), seguido em anos subsequentes pelos demais estados brasileiros.

O IAC, ao longo dos seus 122 anos, tornou-se a instituição nacional mais tradicional na conservação de recursos genéticos vegetais agrícolas, mantendo atualmente, em seu Sistema de Curadoria, mais de 40 BAG, entre plantas, microorganismos e herbários.

Outro marco nacional histórico, em relação aos bancos de germoplasma, foi a criação, em 1970, do Centro Nacional de Recursos Genéticos (Cenargen), hoje Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Essa Unidade gerencia, por meio do Sistema Nacional de Pesquisa Agrícola (SNPA), as principais ações brasileiras nessa área, pela coordenação dos bancos de germoplasma dos Centros de Pesquisa da Embrapa e pela conservação dos acessos oriundos das expedições científicas de coleta de

germoplasma e acessos depositados nesse Banco Base de Germoplasma (BBG) federal. Tudo isso a posiciona hoje como a principal mantenedora de recursos genéticos ex situ do País bem como uma das principais do mundo. Nesse programa, estima-se a existência de aproximadamente 200 mil acessos de germoplasma vegetal (KNUDSEN, 2000) conservados no médio e longo prazos, distribuídos em cerca de 250 BAGs, localizados em unidades da Embrapa, empresas estaduais, institutos de pesquisa, universidades e empresas privadas, pertencentes ao Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA).

Apesar dos esforços, ainda são poucos os BAGs brasileiros que podem ser considerados de referência mundial, por conservarem grande parte da variabilidade genética da espécie-alvo. Nessa categoria, por exemplo, estão os de café e citros, que se encontram no IAC, e o de espécies silvestres de amendoim, que estão no Cenargen. Mesmo que ainda se discuta a questão de variabilidade genética necessária para que uma coleção passe a ter um status de BAG, atualmente considera-se que no País existam mais de 400 BAGs-plantas mantidos pelos governos federal, estadual e municipal, por empresas e por particulares.

No caso de aves e outros animais, a conservação ex situ é efetivada em zoológicos, instituições zoobotânicas ou aquários, privilegiando-se as espécies raras exóticas e nativas, em especial as ameaçadas de extinção, porém conservando-se poucos espécimes e consequentemente uma baixa variabilidade genética. Os BAGs de animais são conservados, principalmente, pela Embrapa e instituições estaduais, tanto in situ como ex situ (in vivo e in vitro).

Para os BAGs de micro-organismos e coleções de cultura, pode-se citar um número aproximado de 80 coleções no País, entre vírus, bactérias, fungos e protozoários. Admitem-se, em relação ao material mantido em coleções de culturas, em torno de 3,6 mil espécies bacterianas, 69 mil espécies de fungos, 31 mil protozoários e 5 mil vírus, como será discutido no capítulo "Recursos Genéticos Microbianos".

Tipos de conservação

Aqui se pretende apresentar os tipos de técnicas mais comuns da conservação in situ e da consevação ex situ.

Conservação em banco base de germoplasma (BBG)

Os BBGs são unidades conservadoras de acessos de germoplasma, no médio e longo prazos, de uma determinada espécie e (ou) gênero.

Os trabalhos de conservação de recursos genéticos são vitais à manutenção dos programas de pesquisas em melhoramento genético, as quais sobrevivem em razão do suprimento, à coleção de trabalho, de germoplasma com uma alta variabilidade genética, fornecido, normalmente, pelos BBG.

Essa técnica é empregada apenas para conservação de sementes ortodoxas e intermediárias. No entanto, recomenda-se o seu uso mais para as espécies com sementes ortodoxas, pois elas permanecem muito bem conservadas em baixas temperaturas (+5 ºC até -20 ºC) e umidade (entre 4% e 6%), enquanto as intermediárias somente podem ser armazenadas entre 10% e 20% e conservadas em embalagens herméticas para a manutenção da umidade, como discutiremos no capítulo "Conservação de Germoplasma Semente em Longo Prazo".

Para a introdução do germoplasma, nas câmaras frias, além do aspecto de limpeza fitossanitária, sugere-se que os acessos estejam com um poder germinativo acima de 85%, por questões da sobrevivência no longo prazo.

Ainda podem ser citadas as técnicas de criopreservação e de conservação in vitro, como de conservação em banco base, detalhadas mais adiante.

A infraestrutura básica recomendada para um sistema de Banco Base de Germoplasma deve incluir: uma secretaria, onde se procede a

elaboração e manutenção de fichários, contendo as informações sobre o acesso, especialmente os dados de passaporte e de caracterização; laboratórios, destinados para estudos de viabilidade e de conservação no médio e longos prazos, tais como de criopreservação em nitrogênio líquido e conservação in vitro; câmaras-frias, para a conservação de sementes; e telados, para conservação de plantas inteiras.

O procedimento no BBG, durante a conservação, é de acompanhamento do poder germinativo e vigor das sementes e, quando esses atingem limites perigosos, e há riscos de perda, os responsáveis pelo banco base devolvem o material para o BAG, que se responsabiliza pela regeneração e posterior devolução dos acessos ao BBG.

A manutenção dos BBGs, no Brasil, é efetuada principalmente pelo Cenargen e instituições de governos estaduais, como o IAC. Esses BBGs normalmente são mantenedores de grande número de coleções de espécies diversas; dessa forma, no Cenargen, são conservados cerca de 75 mil acessos, englobando aproximadamente 400 espécies de plantas econômicas, enquanto no IAC iniciou-se a conservação com cerca de 3 mil acessos de feijão, milho e espécies nativas diversas mantidas como fiel depositário.

No mundo, existem aproximadamente mais de 1.300 BAGs, de plantas econômicas e (ou) organismos benéficos. Incluem-se, nesses dados, os BAGs mantidos pela comunidade internacional, no Grupo Consultivo para a Pesquisa Agrícola Internacional (Cigiar – www.warda.cgiar.org), com 15 centros internacionais – Centro Internacional de Melhoramento de Milho e trigo (Cimmyt), Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat), Centro Internacional de Batata (CIP), Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), Centro Internacional de Pesquisa em Áreas Secas (Icarda), Instituto de Pesquisas Internacional para culturas dos Trópicos Semiáridos (Icrisat), Instituto Internacional de Pesquisa em Arroz (IRRI) e Centro de Arroz da África (Warda); além de outros que atuam apoiando áreas diversas em recursos genéticos – Centro para

Pesquisa Internacional de Florestas (Cifor), Centro Mundial de Agroflorestas (Icraf), Instituto Internacional de Pesquisa Pecuária (ILRI), Instituto Internacional de Gestão da Água (IWMI), Instituto Internacional de Pesquisa e Fiscalização Alimentar (IFPRI) e Centro Mundial de Pesca (WFC) e Bioversity International (antigos IPGRI e IBPGR) (Tabela 1).

Tabela1. BBG mantidos em centros internacionais, em 2009.

Centro internacionais	Sigla	Cultura
Melhoramento de milho e trigo	cimmyt	Cevada, milho, trigo e triticale
Agricultura tropical	Ciat	Arroz, feijão, forrageiras e mandioca
Batata	cIP	batata
Agricultura tropical	IITA	Banana, feijão africano, feijão-guandu, inhame, lab-lab, milho, mandioca, soja e vigna
Pesquisa agrícola em zonas áridas	Icarda	Cevada, grão-de-bico, trigo, triticale, feijão-fava, forrageiras e lentilha
Pesquisa em cultivos para zonas tropicais e semiáridas	Icrisat	Amendoim, grão-de-bico, guandu e sorgo
Pesquisa de arroz	IRRI	Arroz
Desenvolvimento do cultivo de arroz na África Ocidental	Warda	Arroz

Quando, no BBG, além de conservado, o germoplasma passa a ser intercambiado, caracterizado, pesquisado a campo e laboratório e utilizado, a denominação passa a ser Banco Ativo de Germoplasma (BAG). Muitas ações de conservação não são necessariamente específicas dos BBGs e BAGs, mas são essenciais ao processo de manutenção da variabilidade genética, tais como:

Conservação in vivo a campo

É técnica empregada para a conservação tanto in situ de plantas de propagação vegetativa, animais e micro-organismos em estado nativo,

como ex situ, caso das espécies de plantas perenes (citros, café, cacau, seringueira, etc.), processo muito utilizado pelos jardins botânicos e zoobotânicos, para espécies raras e em risco de extinção.

O problema dessa técnica, para plantas perenes, é a pequena quantidade de acessos por área e a consequente baixa variabilidade genética contrastando com a necessidade do uso de grandes áreas devido ao espaço requisitado.

A conservação on farm, um tipo de conservação ex situ, também se encaixa nesse grupo. É uma ótima alternativa para o agricultor e para o melhorista, se o objetivo é utilizar ações integradas visando conservar germoplasma de cultivares em desuso, etnovariedades, raças locais, bem como espécies semidomesticadas. Algumas vezes, quando o trabalho ocorre em cooperativas, o germoplasma também é conservado em locais refrigerados, mas por um curto espaço de tempo.

O manejo na conservação a campo tem suas complicações em razão das particularidades de cada espécie, por exemplo: muitas espécies necessitam de tutoramento (ex.: uva); outras, inclusive, linhas com cultivares masculinas e outras femininas (ex.: quiwi); ainda há as que necessitam de controle de polinização com ensacamento (ex.: mamona).

Quando o assunto é o tamanho do BAG, isso representa outra dificuldade de manejo, pois, se o objetivo é a caracterização, como se trata uma coleção com, por exemplo, 2 mil acessos? Logicamente que fica quase impossível trabalhar com blocos ao acaso! O que fazer, então? – Procede-se, neste caso, a avaliação por vários anos, no mínimo três, a fim de ter uma boa comparação entre a testemunha (uma cultivar elite) e os acessos do BAG. Coleções menores podem ser plantadas em várias regiões, para minimizar o efeito do solo e clima, porém são muito raros os casos em que o pesquisador tem acesso a essa facilidade de manejo.

As Unidades de Conservação são um tipo de conservação a campo, mas in situ. Mesmo não funcionando como um BBG ou BAG, têm um

relevante papel na preservação, existindo mais de 900 unidades distribuídas pelo País, entre áreas de proteção ambiental, de relevante interesse ecológico, estações ecológicas, florestas, monumentos naturais, parques, refúgios de vidas silvestres e reservas biológicas.

Conservação ex situ em telados

As plantas são mais protegidas que a campo, sendo um processo utilizado tanto para as plantas, nos curtos e médios prazos, como para coleções indexadas de micro-organismos (vírus, micorrizas, rizóbios, etc). Um problema nessa técnica está na restrição do que também se refere ao espaço físico utilizado, em um ambiente fechado, o que restringe o seu uso para plantas de pequeno porte, como algumas espécies hortícolas (ex.: amendoim silvestre, morango, etc).

Conservação in vitro

Essa técnica é empregada para a conservação ex situ de plantas e micro-organismos, em laboratório, sob condições artificiais de luz, umidade e temperatura. Normalmente é utilizada mais para espécies de plantas com sementes recalcitrantes e intermediárias, em curtos e médios prazos (ex.: batata, morango, etc). Nesse caso, os acessos vegetais são cultivados no interior de vidros e (ou) embalagens plásticas sob meios de cultura solidificados ou não, contendo nutrientes e reguladores de crescimento específicos para a espécie em questão e que permitam o crescimento controlado. Nessa técnica, são conservadas plantas inteiras ou parte delas, tais como: gemas, meristemas, embriões e calos. Durante a conservação, como é comum a ocorrência de variação somaclonal, torna-se necessário o trabalho sinérgico com especialistas em caracterização genética. A confirmação da eficiência da técnica utilizada somente é definida a posteriori, na etapa de regeneração, pois, muitas vezes, o germoplasma sequer floresce e frutifica.

Com o advento das técnicas de clonagem animal, tecidos animais também podem ser cultivados e, depois, mantidos criopreservados com

propósitos conservacionistas. A Embrapa montou um Banco de Germoplasma Animal onde são armazenados sêmen e embriões coletados de vários Núcleos de Conservação, de diversos estados do Brasil.

Conservação em temperaturas controladas

Para os microorganismos, os métodos variam conforme a espécie-alvo, podendo ser conservados em laboratórios climatizados, geladeiras de 5 ºC a 6 ºC (fungos micorrízicos), liofilização e crioconservação a menos 17 ºC (rizóbios) e em freezer a menos 80 ºC e liofilizados (bactérias e culturas de tecido animal e vegetal).

As plantas, com sementes recalcitrantes, também se conservam em curtos e médios prazos (ex.: frutíferas tropicais e espécies aquáticas) e outras intermediárias (ex.: cacau, coco, seringueira). Algumas ONGs, instituições religiosas, cooperativas e agricultores organizados em comunidade realizam a conservação em bancos de sementes de curta duração, muitas vezes sem refrigeração ou controle de umidade, apenas com o intuito de disponibilização do germoplasma para a próxima safra.

Conservação em nitrogênio líquido

De todas, é a técnica de conservação mais recente e menos explorada cientificamente, pelos altos custos dos equipamentos e do próprio nitrogênio líquido. Na crioconservação dos explantes in vitro, o material é tratado, ou não, previamente com protetores químicos para sobrepujar o estresse provocado pelo congelamento e descongelamento definido pela técnica. A bibliografia registra o seu uso tanto para plantas, embriões, células e sêmens animais, como para micro-organismos. As técnicas, nesse caso, também são muito amplas, variando desde o preparo do material até o manejo na regeneração. Essa técnica é muito útil para experimentos rápidos que podem ser desenvolvidos para estudos com sementes de espécies nativas, objetivando saber do seu potencial para conservação, verificando se são recalcitrantes, intermediárias ou ortodoxas.

Curadorias

Os BAGs são organizados em Curadorias, quer sejam de âmbito nacional, como no Sistema Nacional de Curadorias de Germoplasma, coordenado pelo Cenargen, desde 1974, quer em âmbito institucional, como no caso do IAC e da Agencia Paulista dos Agronegócios (APTA), no Estado de São Paulo. Essas curadorias definem os atores responsáveis pelos BAGs e suas atribuições, possibilitando um adequado gerenciamento na coordenação e execução das atividades de conservação, manejo e uso de recursos genéticos. Os curadores são especialistas responsáveis, portanto, pelo gerenciamento e manejo dos acessos dos BAGs ou coleções científicas (ex.: herbários).

Administração dos BAG e coleções científicas

Intercâmbio de germoplasma

Com certeza, essa foi a atividade mais relevante na implantação da agropecuária, nos primórdios da humanidade. No Brasil, os colonizadores nos impuseram seus costumes alimentares e de uso das espécies exóticas, tornando-nos fortemente dependentes de seus recursos genéticos. A política capitalista, de obtenção do máximo lucro possível, também atingiu a agropecuária, resultando, na área vegetal, no cultivo de monocultivares. Isso traz reflexos negativos, pelo uso de germoplasma com estreita base genética e, consequentemente, suscetível às novas pragas. Paralelamente, tem-se o avanço sem fim da agropecuária sobre as matas nativas, afetando o meio ambiente pela contaminação dos lençóis freáticos por herbicidas e inseticidas, e pelo manejo desastrado do solo com consequente destruição de nascentes d'água, assoreando os rios, perda do solo agricultável e criação de voçorocas. Tudo isso em prejuízo da biodiversidade, pois, como se sabe: a extinção é para sempre!

A introdução de plantas, bem como de germoplasma animal e de micro-organismos, já não é apenas uma opção, mas sim, uma necessidade às futuras gerações. Como existem inúmeros BAGs espalhados pelo País,

além de coleções de jardins botânicos, coleções de trabalho de pesquisadores e coleções de particulares, a introdução de novos genótipos deve ser acelerada para abastecê-los com a variabilidade genética necessária aos programas de melhoramento genético.

Contudo, do ponto de vista fitossanitário, alguns cuidados têm que ser levados em consideração. Como a demanda por acessos é muito grande, deve-se efetuar a sua introdução paulatinamente, a fim de que os responsáveis pelos serviços de quarentena possam realizar o seu trabalho com a maior segurança possível. As introduções devem ser realizadas oficialmente, pelo Serviço de Sanidade Agropecuária, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Sedesa/Mapa), do estado a que pertença o importador.

O pesquisador interessado deve consultar o exportador sobre os dados de passaporte dos acessos, a fim de preencher os documentos de permissão de importação; porém, como são poucos os estados que possuem um quarentenário credenciado, deve-se consultar o Sedesa (www.agricultura.gov.br), para saber de onde a exportação será efetuada. No caso de transgênicos, o processo é mais demorado, necessitando também da autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Tudo isso tem que ser providenciado com antecedência, pois o período entre o pedido de importação, referente ao trâmite do material e a liberação da quarentena, pode inviabilizar o plantio do germoplasma na época adequada do ano agrícola.

Coleta de germoplasma vegetal

A coleta de germoplasma é um processo custoso e meticuloso, começando pela consulta aos herbários, mapas e bibliografias sobre a espécie desejada, passando por equipamentos necessários, meios de locomoção, elaboração de estratégia para o percurso a ser percorrido em função do tempo programado e organização da equipe adequada, como será discutido no capítulo "Princípios sobre Coleta de Germoplasma Vegetal".

Para a coleta, deve-se levar em consideração quais os seus objetivos Pode ser dirigida para a busca por germoplasma de espécies exóticas, de material cultígen, de cultivares tradicionais, de etnovariedades, de raças locais ou de material nativo. No caso das espécies cultivadas, pode ser efetuada junto às comunidades (lavouras, roças, hortas, pomares, mercados e feiras). Para o caso de espécies nativas, a busca é por germoplasma em prováveis áreas de origem e (ou) dispersão, devendo-se ter em mente a metodologia de amostragem que será utilizada, a qual varia entre gêneros e até mesmo entre espécies de um mesmo gênero.

Tudo isso somente pode ser executado seguindo a legislação de fitossanidade e biossegurança do Brasil, cujas autorizações passam pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN (www.mma.gov.br), no caso de ter acesso ao conhecimento tradicional, e pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – Ibama (www.ibama.gov.br), quando não se encaixa no primeiro caso.

Dados de passaporte

Os dados de passaporte são informações que identificam a amostra, tais como: número de introdução; nome do remetente e do coletor; número da remessa e da coleta e outros números de registro relacionados; nome científico e nome vulgar; genealogia; nome da cultivar; datas da coleta, da introdução e de regeneração; tipo de material reprodutivo e quantidade; tipo de manutenção (vegetativo, semente, in vitro); país de origem e de procedência; local da coleta (estado, município, latitude, longitude, altitude, tipo de solo, tipo de vegetação, topografia); outras informações como: uso, número de plantas coletadas, cor das flores, cor dos frutos, sombreamento, número do exemplar de herbário e do *Rhizobium* coletados.

A ficha de coleta de campo, utilizada pelos especialistas em recursos genéticos e de botânica, é um exemplo de dados de passaporte, em que constam os dados taxonômicos, dados de caracterização morfológica

preliminar, dados do local de coleta como localização geográfica (latitude, longitude e altitude), solo, clima, espécies associadas, etc.

No caso de cultivares e linhagens, os dados referentes a genealogia são de extrema importância, para compor os dados de passaporte, bem como os de informações sobre o seu livre intercâmbio ou de uso restrito, pelo registro ou proteção.

Caracterização e avaliação

A caracterização é a descrição das características de um acesso do BAG, coleção de trabalho ou mesmo nova cultivar elite, enquanto a avaliação verifica o seu potencial agropecuário.

Tanto os dados de caracterização como os de avaliação necessitam de uma padronização que minimize os erros decorrentes dos efeitos do meio ambiente. Assim, após dois ou mais anos de avaliação, pode-se definir qual a variabilidade do BAG e elaborar descritores adequados ao mesmo.

A caracterização se inicia pelos dados de passaporte (obtidos na coleta, manuseio e intercâmbio do germoplasma), tornando-se o primeiro item de um descritor.

O termo descritor vem do latim "*descriptore*", significando: o que descreve ou aquele que descreve. Pode ser definido como sendo um registro que ordena os dados de uma cultivar, espécie ou gênero, permitindo distinguir os seus acessos.

Os descritores são chamados de: (a) mínimos – quando são utilizados para a descrição de cultivares, que normalmente possuem baixa variabilidade genética; e (b) completos – quando são elaborados para aplicação em caso de alta variabilidade genética, como ocorre no caso de um BAG.

Os dados resultantes da aplicação dos descritores podem ser tanto quantitativos, como qualitativos ou semiqualitativos. Englobam os da-

dos: (a) morfológicos – organografia e anatomia da planta, folhas, flores, frutos, sementes e partes subterrâneas; (b) agronômicos – ciclo de maturação, época da produção, produção por planta, dados do pólen, autofertilidade, teor de óleo das sementes, produtividade, resistência a fatores adversos; (c) genéticos – citológicos, Isoenzimas, DNA; e (d) tecnológicos – aroma, sabor, açúcares, acidez, grau de conservação, em pesquisas de campo, casa de vegetação e (ou) laboratórios.

Esses descritores nada mais são que uma gama de características expressas em números de um acesso, com o objetivo de distingui-lo dos demais. Podem ser representados por notas que vão de 0 a 9, em que o zero (0) é utilizado para ausência, e o sinal de positivo (+) é para o caso da presença; já os números 1,3,5,7 e 9 definem os descritores, enquanto os intermediários 2, 4 e 6 são utilizados quando há dúvida entre duas notas, ao longo dos anos de avaliação.

Informatização e documentação

A informatização e a documentação são essenciais, em razão da grande quantidade de dados obtidos bem como da necessidade do seu registro, por meio dos descritores, disponibilizando-os e permitindo, aos melhoristas genéticos e pesquisadores responsáveis pela conservação e intercâmbio, um acesso rápido a esses dados.

Programas internacionais são disponibilizados gratuitamente, ou não, para o uso em BAG, como é o caso do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos com o Germplasm Resources Information Network's – GRIN (www.ars-grin.gov/npgs/aboutgrin.html), que apoia quatro projetos: o National Plant Germplasma System (NPGS), o National Animal Germplasm System (NAGP), o National Microbial Germplasm Program (NMGP) e o National Inverteb rate Germplasm Program (NIGRP); há também o do Sistema Brasileiro de Informações em Recursos Genéticos (Sibrargen), preparado pelo Cenargen, e o Sistema Gerenciador de Bancos de Dados para o Manejo e Monitoramento de

Coleções Vivas em Jardins Botânicos (Arbor), pertencente ao Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Como esses, existem muitos outros, particularizados em algumas instituições estaduais, como é o caso do elaborado para a intranet do IAC (Germo). Existe ainda o Centro de Referências em Informação Ambiental (CRIA), que possui uma rede de instituições paulistas disponibilizando seus dados em programas como os: Species Link, com coleções biológicas; Sinbiota, com informação ambiental; e Sicol, com informações sobre insumos biológicos.

Bancos de Germoplasma no Brasil

BAG de plantas

Estima-se a existência de mais de 250 BAGs de plantas em todo o território nacional. Mesmo sendo chamados de BAG, em algumas enquetes, deve-se ter em mente que muitos não se encaixam na definição e são provavelmente meras coleções de trabalho ou têm material-alvo pouco representativos. Entretanto, pela bibliografia constam como BAG as seguintes culturas: abacate, abacaxi, abóbora, abricó, açaí, acerola, açucena, adesmia, aegilopus, agropyron, alface, alfafa, algodão, alstroemeria, alho, amarílis, ameixa, amendoim, amendoim silvestre, amendoeira, antúrio, araçá, araticum, arbóreas, arnica, arroz, aspargo, aveia, bacaba, bacuri, bambu, banana, barbatimão, baru, batata, batata-doce, berinjela, braquiária, braúna, bromus, cacau, caiaué, café, cajá, caju, caqui, camu-camu, cana-de-açúcar, calopogonium, capim-elefante, capim-guné, caupi, castanha-do-brasil, castanha-japonesa, cebola, cenoura, centeio, centrosema, cerejeira, cereal-aldey, cevada, citros, coco, copaíba, couve, cucúrbitas, cupressus, cupuaçu, carauá, crajiru, damasco, dendê, espécies autóctones, espécies florestais nativas, espécies florestais exóticas, ervilha, eucalipto, faveira, feijão, feijão-adzuki, feijão-mungo, feijão-de-corda, feijão, figo, florestais coníferas, florestais folhosas, forrageiras, fruteiras, fruteiras tropicais, gergelim, gengibre, ginseng brasileiro, girassol, goiaba,

goiabeira serrana, gonsalo-alves, gladíolo, graviola, grão-de-bico, guaraná, heliconia, hortaliças, ipeca, ipê, jaborandi, jacarandá, jambu, jequitibá, juta, louro-pardo, lentilha, leguminosas, maçã, macadâmia, malva, mama-cadela, mamão, mamona, mandioca, mandioquinha-salsa, manga, mangaba, mandioca, mandioca silvestre, mandioquinha-salsa, maracujá, marmelo, medicinais, melancia, melão, milheto, milho, milho-pipoca, mogno, moranga, morango, muirapuama, mururi-pagé, nectarina, nêspera, ornamentais, palmito, palmeiras, panicum, paspalum, pinus, pata-de-vaca, patauá, pau-brasil, pau-d'arco-amarelo, pau-rosa, pedra-hume-caa, pecã, pêra, peroba, pêssego, pepino, pimenta, pimenta-do-reino, pimentão, pinhão, pitanga, plantas-aromáticas, plantas-condimentares, plantas-inceticidas, plantas-medicinais, pupunha, quiabo, quinoa, rami, seringueira, sesbânia, sisal, soja, solanacea, sorgo, estilosantes, sumaúma, timbó, tomate, trigo, triticale, trifolim, tucuman, ucuuba, umbu, ume, urucum, uva, velame e zingibecea.

BAG de animais

Os mais de 10 BAGs de animais existentes no País englobam as seguintes espécies: ex situ, conservam-se aves (corte e postura), bovinos (raça Pé-duro ou Curraleiro, Pantaneiro, Mocho Nacional, Crioulo Lageano, Junqueira e Caracu), bubalinos, caprinos (Azul, Marota, Canindé, Repartida, Gurguéia, Moxotó), equinos (Campeiro, Lavradeiro, Marajoara, Pantaneiro, Poney Puruca), ovinos (Crioula Lanada, Santa Inês, Morada Nova, Sornalis Brasileiro), suínos (Moura, Caruncho, Pirapetinga, Piau, Canastra, Canastrinha, Canastrão, Tatu, Nilo e Casco-de-mula), asininos (Jumento Nordestino, Jumento Brasileiro). In situ, preservam-se os animais silvestres como a capivara, paca, jacaré-do-pantanal, tartaruga-da-amazônia, lobo-guará, tracajá, etc., muitos desses utilizados como criação comercial.

Hoje, estima-se que, nos jardins zoológicos brasileiros, também sejam conservados, entre mamíferos, aves, répteis e anfíbios, cerca de 40 mil espécimes.

BAG de micro-organismos / coleções científicas

O número de BAG/coleções científicas, catalogados como de micro-organismo até 2005, no País, não passa de dois: (a) *Bacillus* spp., para controle biológico (Cenargen/DF); e (b) cogumelos, de uso alimentar e medicinal (Emater/RS). A maioria dos micro-organismos é catalogada apenas como coleções científicas, em número de 15, em todo o Brasil; são eles: actinomicetos, algas, cogumelos, fungos, fungos-basidiomicetos, fungos-filamentosos, fungos aquáticos, entomopatógenos, anaeróbicos, *Actinomycetales*, *Bacillus*, bactérias, bactérias-anaeróbicas, bactérias patogênicas de alimentos, bactérias gram negativas não entéricas, cocos gram positivos patogênicos, Enterobacteriaceae, *Erysipelothorix*, *Listeria*, leveduras, micorrizas, *Mycoplasmatales*, micotoxinas, microalgas, nematoides entomopatogênicos, protozoários, trypanossomatídeos, vírus, Mammalia, Poriphera, Amphibia, Reptilia, Insecta, Helmynthes, Annelida, Chilopoda, Diplopoda, Echinodermata, Mollusca, Pisces, Crustácea e Porífera, herbário plantas vasculares, herbário micológico, micoteca, rizobium e rizobactéria.

Boa parte dos dados desses recursos genéticos pode ser acessado pela já citada rede Species Link (http://splink.cria.org.br/collections).

Problemas Enfrentados pelos Mantenedores

Muitas vezes, o responsável pelo germoplasma depara-se com problemas que, aparentemente, são simples, no entanto impossibilitam o seu uso. O primeiro deles é básico, refere-se aos dados de passaporte. Informações como origem, procedência, nomenclatura, etc, são essenciais a qualquer programa de melhoramento, logo sua ausência inviabiliza o seu uso.

O tipo da técnica utilizada também pode ser a causa de preocupações no manejo de recursos genéticos. No caso de conservação de plantas pe-

renes in vivo, além de ocupar muito espaço no campo, ainda existe o risco de perda por pragas e intempéries naturais, o que justifica a duplicação do germoplasma em mais de uma região.

Por mais segura que seja a técnica utilizada, ainda assim existem tormentos para os mantenedores, como no caso das técnicas de conservação em câmaras-frias, em laboratórios in vitro e em tambores de nitrogênio líquido, onde todos os acessos estão sujeitos às depredações por guerras, por incêndios, falta de energia, etc. No caso da conservação in vitro, ainda acrescenta-se o risco de erosão genética por ocorrência de variação somaclonal.

Já é do conhecimento de todos as imensas dificuldades encontradas pelos mantenedores de coleções, as quais vão se deteriorando com o tempo, fato agravado pela alta rotatividade dos responsáveis pela curadoria da coleção, cuja tendência é a de ficar sempre nas mãos do pesquisador mais jovem da equipe.

Além de ser uma atividade dependente de uma estrutura moderna, às vezes dispendiosa, e que exige uma visão de futuro, um aspecto muito crítico é a escassez de apoio financeiro aos projetos de conservação, quer seja pela própria instituição mantenedora quer seja pelas instituições financiadoras, em especial para o item pessoal de apoio.

Espera-se que a nova Sociedade Brasileiras de Recursos Genéticos, proposta e aprovada no II Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos, no DF, em 2008, possa viabilizar um Sistema Nacional de Recursos Genéticos, integrando os BAGs e as coleções científicas brasileiras, já que apesar da relevância do Sistema Embrapa, este não atinge as instituições estaduais e municipais, nem mesmo aos particulares mantenedores de germoplasma.

Referências

BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. (Ed.). **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 909 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. **Primeiro relatório nacional para a conservação sobre a diversidade biológica Brasil**. Brasília, DF: SMA/DEPAM/COBIO, 1998. 283 p.

EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos Animais. Cordoba. **Archivos de Zootecnia**, v. 51, p. 39-52, 2002.

HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T. T. **Seed biology**. New York, NY: Academic Press, 1972. p. 145-245.

HEYWOOD, V. H. **Estratégia dos jardins botânicos para a conservação**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1989. 69 p.

IBPGR. **A glossary of plant genetic resources terms (english/arabic)**. Rome: IBPGR SECRETARIAT, 1980. 54 p.

KAGEYAMA, P. (Coord.). Relatório do grupo de trabalho 9 do PRONABIO/COBIO/MMA: produtos da biodiversidade, diversidade genética, espécies domesticadas e parentes silvestres. In: ESTRATÉGIA NACIONAL DE DIVERSIDADE BIOLÓGICA, 1998. 32 p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/sbf/chm/doc/gtt9.pdf>. Acesso em: 19 out. 2004.

KNUDSEN, H. (Ed.). **Directorio de colecciones de germoplasma en América Latina y el Caribe**. Roma: IPGRI, 2000. 369 p.

NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos & melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 1183 p.

NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina: E. Rodrigues, 2001. 328 p.

QUEROL, L. D. **Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado**: aproximação técnica y socioeconômica: 1956. Lima: Industrial Gráfica, 1988. 218 p.

SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE (SIRGEALC), 3., 2001, Londrina. **Anais**... Londrina, PR: Instituto Agronômico do Paraná, 2001. 680 p.

VEIGA, R. F. A. Bancos de germoplasma: acervos dos bancos de germoplasma do estado de São Paulo. In: JOLY, C. A.; BICUDO, C. E. M. (Org.). In: BRITO, M. C. W. de; JOLY, C. A. **Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil**: síntese do conhecimento ao final do século XX, 7: infra-estrutura para conservação da biodiversidade. São Paulo, SP: FAPESP, 1999. p. 103-109.

VEIGA, R. F. A. Situação dos recursos fitogenéticos no Brasil. In: PROGRAMA COOPERATIVO PARA EL DESARROLLO TECNOLÓGICO AGROPECUÁRIO DEL CONO SUR: subprograma recursos genéticos: avances de investigación en recursos genéticos en el Cono Sur/PROCISUR. Montevideo: PROCISUR, 1999. 19-27 p. (Diálogo; 55).

VEIGA, R. F. A. Sistema de curadorias de coleções biológicas da APTA – SP. In: GOEDERT, C. O. (Org.). SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2.,2008. **Anais**... Brasília, DF: Embrapa, 2008. p. 85.

WETZEL, M. M. da S.; BUSTAMANTE, P. G. **Sistema de curadoria de germoplasma.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 44 p (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 53).

WETZEL, M. M. V. da S.; BUSTAMANTE, P. G. (Org.). **Diretório de recursos genéticos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 140 p.

4

Princípios sobre Coleta de Germoplasma Vegetal[1]

Bruno Machado Teles Walter
Taciana Barbosa Cavalcanti
Luciano de Bem Bianchetti

Introdução

Coleta de germoplasma compreende o conjunto de atividades empregadas na obtenção de unidades físicas vivas que contenham a composição genética de um organismo, ou de amostra populacional de determinada espécie com a habilidade de se reproduzir. O germoplasma vegetal pode ser coletado, trabalhado e conservado na forma de sementes ou mudas – que são as unidades mais visadas –, estacas, grãos de pólen ou cultura de tecidos (BALICK, 1989). Dependendo do contexto, o termo coleta de germoplasma também se refere à missão ou à expedição de campo que busca a obtenção dessas unidades.

Por que coletar germoplasma? Essa pergunta pode ser respondida sob vários enfoques. Uma justificativa comum na literatura é que o número de plantas e animais utilizados pelo homem é pequeno, se comparado ao número de espécies existente na natureza. Estima-se que existam

[1] Com pequenas modificações, este capítulo foi originalmente publicado em 2007, no livro Recursos Genéticos Vegetais (Embrapa), editado por L. L. Nass (p.193-229).

em torno de 250 mil a 500 mil espécies de plantas superiores (fanerógamas). Desse universo, somente cerca de 30 espécies suprem em torno de 95% da nutrição humana oriunda dos vegetais, dos quais trigo, arroz, milho, batata, mandioca, batata-doce e cevada são responsáveis por 75% da energia humana (HAWKES, 1983; MOONEY, 1987). O trigo, o arroz e o milho respondem por 75% do consumo de cereais, ou seja, mais da metade da alimentação humana (ZEDAN, 1995).

Em análise mais ampla sobre o abastecimento per capta de 146 países, detectou-se que 103 espécies foram indicadas como sendo responsáveis por 90% dos alimentos vegetais consumidos no planeta (PRESCOTT-ALLEN; PRESCOTT-ALLEN, 1990). Essas espécies incluem: algodão (óleo da semente), amendoim, arroz, aveia, banana, batata, batata-doce, beterraba, cacau, cana-de-açúcar, cará/inhame, centeio, cevada, citros, coco, dendê, ervilha, feijões, grão-de-bico, maçã, mandioca, melancia, milheto, milho, gergelim, soja, sorgo, tomate, trigo e uva. Logo, percebe-se que a agricultura é extremamente dependente de uma parcela mínima do reino vegetal, da qual se exige o máximo de eficiência produtiva para suprir a demanda por alimentos.

No entanto, se essas poucas espécies apresentassem problemas de produção devidos a pragas ou doenças, a alimentação humana, ou parte dela, ficaria comprometida. Dessa forma, na ausência de fontes de resistência sob conservação ex situ, o melhoramento genético visando contornar, ou mesmo evitar o problema, ficaria muito limitado.

Outra justificativa para coletar e conservar é em razão da rápida degradação dos ecossistemas naturais, substituídos por cultivos cada vez mais uniformes. Prática que tem causado extinção em larga escala de recursos genéticos (YONEZAWA, 1989).

A conservação de recursos genéticos tem sido abordada mundialmente de duas maneiras complementares: (I) pela conservação in situ, mantendo-se as espécies no ambiente natural; e (II) pela conservação

ex situ, em que as espécies são diretamente manejadas pelo ser humano. Para que a conservação ex situ possa ser realizada, devem ser aplicados métodos apropriados de coleta e posterior preservação do germoplasma. É nesse contexto que se evidencia a relevância dessa atividade.

Razões para a Coleta de Germoplasma

Inúmeros autores já indicaram diferentes razões para se coletar germoplasma (BENNET, 1970; HAWKES, 1976; ARORA, 1981; CHAPMAN, 1989; HOYT, 1992; BOTHMER; SEBERG, 1995; ENGELS et al., 1995; WALTER, 2000). Com base neles, para se obter germoplasma de um dado conjunto (pool) gênico, em uma determinada área, destacam-se as seguintes razões:

a. A necessidade de conservar o germoplasma para uso futuro, em razão de ele estar em perigo de erosão genética ou mesmo de extinção.

b. A necessidade expressa por usuários, em âmbito nacional ou internacional, para uso em programas de melhoramento genético, pesquisas aplicadas, recuperação de áreas, ou plantio comercial.

c. A necessidade de ampliar o conhecimento técnico-científico por pesquisa básica.

d. A perda de diversidade genética ou representação nas coleções ex situ existentes.

e. A necessidade de se conservar ex situ parentes silvestres de plantas cultivadas.

f. A necessidade de se ampliar a diversidade taxonômica das coleções ex situ existentes, sugerindo novos usos para espécies pouco conhecidas ou de uso restrito (potencialmente importantes).

g. A necessidade de se resgatar germoplasma em áreas ameaçadas por impactos humanos ou naturais.

Essas razões, que não são mutuamente exclusivas, compreendem os principais fatores que demandam a coleta de germoplasma. A maioria delas preocupa-se em justificar ações de coleta para "germoplasma em perigo", que é o argumento tradicional para obtenções por coleta. Entretanto, também devem ser consideradas as crescentes "áreas em perigo", cujo material é obtido em ações denominadas "resgate". Portanto, tanto o "germoplasma" quanto a "área" dão suporte às ações de coleta, mas as perspectivas de uso é que fortalecem tecnicamente as missões.

Breve Histórico sobre a Coleta de Germoplasma

Os mais antigos registros sobre missões de coleta de plantas datam de 2500 a.C. (4500 AP), quando os sumérios despacharam expedições à Ásia Menor na busca de uvas, figos e rosas (PLUCKNETT et al., 1987). Posteriormente, em uma referência clássica na literatura (FORD-LLOYD; JACKSON, 1986; PLUCKNETT et al., 1987; GUARINO et al., 1995), por volta de 1500 a.C., a rainha egípcia Hatschepsut enviou uma missão ao leste da África (Somália, Sudão) com objetivos militares, mas que também incluiu a busca por mirra (*Commiphora*) e plantas vivas de uma espécie de *Boswellia* (Burseraceae). Desde a antiguidade, a resina dessa árvore tem sido usada na produção de um valioso incenso odorífero, denominado "frankincense".

Com a descoberta do Novo Mundo em 1492, os colonizadores ibéricos deram início a coletas sistemáticas nas Américas e a um importante programa de permuta de germoplasma com o Velho Mundo. Essa permuta influenciou sobremaneira a alimentação mundial. Até o início do século 20, sem que houvesse preocupação em obter diversidade genética, portugueses, espanhóis, ingleses, holandeses e franceses foram particularmente ativos no movimento de plantas entre os continentes. As

plantas eram enviadas principalmente para jardins botânicos da Europa, cuja implantação foi disseminada a partir do século 18, estendendo-se a diferentes partes do mundo, incluindo o Brasil. Com a introdução e o intercâmbio de produtos novos, houve uma verdadeira revolução alimentar em âmbito mundial, quando espécies, antes de uso localizado e limitado, passaram a ter uso universal.

Esse trânsito histórico de germoplasma pelo mundo foi bem detalhado por Plucknett et al. (1987), encontrando-se muitas citações importantes em Ford-Lloyd e Jackson (1986), Lleras (1988), Weatherford (1988) e Guarino et al. (1995), entre outras fontes.

Na primeira metade do século 20, com a redescoberta dos trabalhos de Gregor Mendel aliada à aceitação do Darwinismo, surgiu um novo tipo de coletor, aquele consciente da variabilidade nas espécies. Pelas instituições de pesquisa, estabeleceu-se que plantas individuais já não eram representantes suficientes das espécies. Deve-se ao russo Nikolai I. Vavilov (1887-1943) e aos seus colaboradores a valorização da diversidade de plantas cultivadas e de seus parentes silvestres para fins de melhoramento genético. A partir de 1916 até a década de 1930, Vavilov e sua equipe conduziram inúmeras expedições de coleta de germoplasma por diferentes partes do mundo, em todos os continentes. Vavilov participou diretamente de quase 100 delas, em mais de 50 países na Ásia, norte da África, nas Américas, Europa e região mediterrânea, reunindo cerva de 50 mil acessos (PLUCKNETT et al., 1987; GUARINO et al., 1995; LOSKUTOV, 1999; KURLOVICH et al., 2000). Geneticista por formação, Vavilov ficou mais conhecido por suas ideias sobre centros de diversidade e centros de origem e domesticação das plantas cultivadas (VAVILOV, 1951, 1992).

A partir dos anos 1960 e 1970, quando o envolvimento com recursos genéticos ganhou impulso na maioria dos países, a preocupação em coletar e conservar germoplasma de plantas cultivadas culminou com a criação, em 1974, do International Board for Plant Genetic Resources

(IBPGR). Seu enfoque nos primeiros anos foi exatamente a coleta de germoplasma, sempre em colaboração com programas nacionais e regionais de pesquisa e conservação. Entre os objetivos que deveriam ser tratados, estavam a localização, o rastreamento e a amostragem em populações no campo, especialmente nos centros de diversidade genética.

Entre os séculos 16 e 19, o Brasil foi palco de inúmeras missões que objetivaram conhecer e explorar a flora nativa. Embora houvesse preocupação em colecionar materiais para herbário, sempre se dispensou pouca atenção para o registro de coleta de materiais vivos. São poucos e muito dispersos os registros sobre atividades visando à coleta e à conservação de germoplasma, seja pela saída de plantas do País (p. ex.: seringueira, fruteiras e plantas ornamentais) seja pela introdução de plantas exóticas (a maioria das espécies de interesse agronômico).

Nos últimos 100 anos, várias instituições nacionais desenvolveram tradição na coleta de recursos genéticos. Porém, a atividade adquiriu a consolidação necessária com a criação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em 1974 (LLERAS, 1988), uma unidade de pesquisa e conservação vinculada à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). A partir de então, outras unidades da Embrapa se co-responsabilizam na obtenção do germoplasma de seus produtos por coleta. Várias universidades, institutos de pesquisa e ensino e organizações não governamentais (ONGs) também começaram a fazer coleta de germoplasma.

Características das Missões de Coleta

Dependendo dos objetivos que se pretenda alcançar e dos recursos financeiros disponíveis, uma missão pode apresentar cerca de seis características que, individualmente ou em conjunto, influenciam as ações de campo e os resultados que serão obtidos. Nesse sentido, há diferen-

tes aspectos ou tipos de missão que devem ser considerados (ENGELS et al., 1995). Cada tipo implica em ações de campo, materiais necessários, técnicas e estratégias muito diferentes, daí a necessidade de identificá-las de antemão.

A primeira característica de uma missão refere-se ao escopo de produtos (ou espécies) que serão coletados. Pode-se buscar múltiplos produtos ou apenas um produto (não raro, uma única espécie). Para múltiplos produtos, a missão é chamada "coleta de varredura" ou "coleta por área".

A segunda característica trata dos grupos de espécies que serão coletados. Pode-se buscar a coleta de espécies tradicionalmente cultivadas ou a coleta de espécies silvestres. A esses grupos estão subordinadas categorias específicas, indicadas adiante.

A busca por caracteres genotípicos ou fenotípicos, que sejam específicos ou variáveis, compreende a terceira característica das missões. Podem-se buscar amostras que representem a mais ampla variação genética encontrada na espécie, em oposição à busca por alguma característica específica de determinada população, dirigida diretamente para fins de melhoramento. Isso implica em diferentes estratégias e abordagens.

Os métodos empregados representam a quarta característica das missões. Eles podem incorporar desde as técnicas tradicionais até o uso de biotecnologias. No primeiro caso, são obtidas sementes, ou material vegetativo, como rebentos, estacas ou mudas, que possam ser multiplicados, conservados e utilizados. No segundo caso, coletam-se partes específicas do vegetal que possam dar origem a novos indivíduos, geralmente via in vitro, como, por exemplo, pólen e meristemas apicais (IBPGR, 1984; WITHERS, 1989, 1995; HOEKSTRA, 1995; PENCE et al., 2002).

A quinta característica refere-se ao número de expedições necessárias: uma única, ou múltiplas expedições. Existem várias razões pelas quais múltiplas expedições devam ser planejadas, para as mesmas ou

para diferentes áreas, cobrindo as variações na época e no período de frutificação dos indivíduos, refletindo mudanças altitudinais, latitudinais ou diferenças microclimáticas. Já expedições únicas podem excluir materiais precoces ou tardios, tanto dentro de uma população quanto entre populações, embora sejam necessários em alguns casos.

A sexta característica relaciona-se aos patrocinadores da expedição, que suportam financeiramente os objetivos e as estratégias de coleta. Patrocinadores podem ser instituições públicas ou empresas privadas.

Em síntese, cada missão de coleta possui características diferentes, com inúmeras combinações possíveis. Como orientação geral, as missões não devem basear-se em um planejamento inflexível, pois um bom programa de coletas, e até mesmo uma expedição qualquer, deve conter elementos que forneçam opções às ações no campo.

Categorias de Espécies a Serem Coletadas

O que coletar? No item anterior, foi indicado que as missões podem buscar espécies cultivadas ou silvestres, os dois grandes grupos-alvo de coletas de germoplasma. Nas pioneiras e clássicas referências que sintetizaram o trabalho com recursos genéticos (FRANKEL; BENNETT, 1970; FRANKEL; HAWKES, 1975; FORD-LLOYD; JACKSON, 1986), o grupo mais discutido foi o das espécies cultivadas. Posteriormente, houve uma preocupação crescente com o grupo das silvestres, em face das perdas desses recursos causadas pela agressiva ação antrópica mundo afora (BROWN et al., 1989; HOYT, 1992; GUARINO et al., 1995).

Dentro desses dois grupos (cultivadas e silvestres), sempre foram reconhecidas algumas prioridades de coleta (LLERAS, 1988), ou tipos de materiais (HAWKES, 1983), ou ainda categorias de espécies (FRANKEL, 1978; GIACOMETTI, 1990; WILKES, 1993) que deveriam ser alvo de

coleta. Embora possuam princípios similares, as categorias diferem de autor para autor.

Sob uma perspectiva abrangente, pode-se indicar quatro categorias (FRANKEL, 1978; GIACOMETTI, 1990). São elas: (a) variedades (ou cultivares) melhoradas; (b) variedades (ou cultivares) primitivas; (c) parentes silvestres; e (d) espécies silvestres (úteis ou potenciais).

Variedades melhoradas são táxons que passaram por melhoramento genético. Isso inclui tanto variedades novas quanto as já obsoletas, selecionadas para uniformidade e alto rendimento (FRANKEL, 1978). A coleta, nesse caso, visa evitar a perda de genes que, eventualmente, poderão revelar-se novamente úteis no futuro. Variedades obsoletas podem ser encontradas nas mãos de pequenos agricultores, sob baixo uso de insumos e também disponíveis em pequenos mercados e feiras.

Variedades primitivas, incluindo "raças locais", são valiosíssimas por sua adaptação às condições ecológicas dos locais onde foram geradas, estando sob cultivo há muito tempo. Em geral a variabilidade genética entre e dentro das populações é grande, como resultado de evolução por seleção natural e (ou) artificial. Para Wilkes (1993), as variedades primitivas se constituem no mais expressivo depósito de germoplasma existente. Geralmente elas são encontradas em áreas onde as variedades melhoradas ainda não foram introduzidas, sendo mantidas principalmente por pequenos agricultores e por grupos indígenas. Quanto mais afastado dos grandes centros urbanos, maiores são as chances de encontrá-las.

Parentes silvestres podem ser definidos como plantas evolutivamente próximas das espécies que são cultivadas. Eles compartilham o conjunto gênico das espécies cultivadas, mas possuem reduzida dependência do ser humano. Na definição de Hoyt (1992), os parentes silvestres são constituídos por um conjunto de espécies afins aos cultivos que ainda continuam vivendo em condições naturais. Parentes silvestres são en-

contrados nos ecossistemas ou ambientes naturais. Sendo assim, as ações de campo visando à coleta são praticamente as mesmas dispensadas à obtenção de espécies silvestres.

Por fim, as espécies silvestres comportam o maior número de táxons que têm sido objeto de coleta para herbários, embora sejam as menos conhecidas, representadas e estudadas nas coleções nacionais e internacionais de germoplasma. Frankel (1978) indicou duas categorias para tratar dessas plantas, separando-as pelo uso atual e pelo uso potencial, embora o autor tenha relevado que há dificuldades em distinguir cada uma delas. Logo, para efeitos práticos, pode-se adotar uma única categoria: espécies silvestres.

Em recursos genéticos, a categoria espécies silvestres deveria incluir somente plantas que representem alternativas de uso potencial. Dentro dos conceitos da Convenção sobre a Diversidade Biológica, as espécies silvestres situam-se na interface entre o pequeno conjunto dos recursos genéticos e o conjunto maior, designado recurso biológico, que, por sua vez, subordina-se ao enorme conjunto da biodiversidade. Portanto, interesse econômico que vise ao cultivo e à domesticação é condição para que uma espécie silvestre possa ser considerada um recurso genético.

Sítios de Coleta

Onde coletar? Um aspecto básico a ser considerado no planejamento de uma missão de coleta é a definição das áreas que serão visitadas (LLERAS, 1988; OKADA, 1991). A falta de atenção a esse óbvio aspecto pode ser uma importante causa de insucesso ou de resultados medianos em missões de coleta (LLERAS, 1988).

Na linguagem técnica sobre coleta de germoplasma, essas áreas são chamadas de "sítios de coleta" ou "sítios de amostragem". O sítio de coleta pode ser definido como uma área na qual as amostras da população são

coletadas (HAWKES, 1976; HAWKES, 1980). Os centros de diversificação são considerados os mais importantes sítios de coleta das espécies de interesse. Eles podem apresentar variações consideráveis em sua área (tamanho), seu local e abrangência, de forma que estudos que os localizem ainda são muito necessários. Nos centros já definidos, deve-se dar continuidade aos trabalhos de coleta.

Em geral são reconhecidos cinco sítios principais de coleta: (a) culturas ou regiões de cultivo; (b) hortas e pomares caseiros; (c) mercados e feiras; (d) habitats silvestres; e (e) áreas ameaçadas.

Regiões de cultivo são encontradas nos mais variados ecossistemas terrestres, com práticas agrícolas estabelecidas e que podem ser discriminantes tanto em área quanto em relação aos produtos cultivados. Nesse sítio é que são encontradas as variedades melhoradas, cultivares obsoletas e primitivas, as quais geralmente representam o material de interesse imediato para melhoramento genético. As principais estratégias de amostragem para coleta de germoplasma foram desenvolvidas nesses sítios (FORD-LLOYD; JACKSON, 1986).

Muito comuns por todo o Brasil e países tropicais, as hortas e pomares caseiros, inclusive o que se designa roça, são os sítios mais adequados para a obtenção das variedades primitivas ou raças locais. Concentram especialmente plantas hortícolas (p. ex.: olerícolas e ornamentais), fruteiras, plantas medicinais e condimentares, representando uma importante fonte de diversidade genética (FORD-LLOYD; JACKSON, 1986).

Mercados e feiras compreendem sítios tradicionais para a coleta de germoplasma, que pode ser realizada de maneira fácil e rápida, obtendo-se grande riqueza de produtos. Entretanto, as facilidades de obtenção contrastam com as incertezas sobre a origem e outras informações relevantes sobre os materiais. As variedades melhoradas e primitivas das espécies de uso tradicional, além de espécies semidomesticadas e silvestres, são as categorias mais encontradas nesses sítios.

Os habitats silvestres são sítios que incluem os mais variados ecossistemas terrestres, nos diferentes biomas ou tipos naturais de vegetação. O Brasil é particularmente diverso em seus biomas, havendo inúmeros recursos genéticos nas florestas Amazônica e Atlântica, no Cerrado, na Caatinga, no Pantanal e nos Campos Sulinos. Parte de cada uma dessas floras é tradicionalmente utilizada, em maior ou menor grau, pelas populações humanas locais.

Áreas ameaçadas por distúrbios drásticos representam outro sítio de coletas. Uma área ameaçada é aquela que contém vegetação nativa ou antrópica, que sofre o risco iminente de perdas ou de erosão de seus recursos genéticos. A vegetação em áreas ameaçadas inevitavelmente tem sido afetada por fatores antrópicos, como a abertura de estradas, implantação de hidrelétricas, projetos de mineração e colonização humana, exploração madeireira, abertura de áreas para agricultura e ampliação de zonas urbanas (LLERAS, 1988; ENGELS et al., 1995).

Nos ambientes ameaçados, a coleta chama-se "resgate". A importância do resgate de germoplasma vegetal vem crescendo, especialmente devido às experiências positivas obtidas no final do século passado (WALTER, 2000). Nas áreas ameaçadas, geralmente são encontradas tanto espécies cultivadas quanto espécies silvestres, cujas ações se realizam em típicas coletas de varredura.

Estratégias de Amostragem

Definidas as espécies (o que coletar) e os sítios de coleta (onde coletar), devem ser estabelecidas as estratégias de amostragem da coleta ("quanto coletar"). O problema central dessa questão é definir métodos pelos quais os coletores possam obter a máxima quantidade de variação genética, com o menor número de amostras (BROWN; MARSHALL, 1995). Allard (1970) foi pioneiro no tratamento desse assunto, salien-

tando que a maioria das espécies vegetais contém estoques enormes de variação genética, que consistem de milhões de genótipos diferentes. Para muitos táxons, cada planta pode ser geneticamente única (BROWN; MARSHALL, 1995). Portanto, a diversidade é enorme e os modos de acessá-la variam entre espécies e táxons.

Algumas noções sobre este tema são apresentadas a seguir, enfocando espécies cultivadas e as silvestres.

Espécies cultivadas

Em um artigo clássico, Marshall e Brown (1975) indicaram que um programa eficiente de coleta e exploração botânica, visando à conservação ex situ, necessitaria de informações em dois níveis. Com base em raças locais das principais culturas tradicionais e em áreas com alta diversidade, no primeiro nível, as decisões deveriam relacionar-se às regiões ou às áreas a serem exploradas. Para tanto, seriam necessárias informações sobre: (a) locais de ocorrência de conjuntos gênicos significativos, onde estes estivessem mais ameaçados; (b) suficiência das áreas exploradas anteriormente e sua eficiência, estimada pela diversidade existente nas coleções; e (c) nível de exploração nos centros de diversidade. No segundo nível, as decisões dependeriam dos métodos de amostragem, sendo necessários conhecimentos sobre: (a) o número de plantas (amostras) necessárias por sítio; (b) o número total de sítios a serem amostrados; e (c) a distribuição dos sítios de amostragem dentro de cada área. Sendo assim, as decisões do segundo nível requisitariam medidas de variabilidade genética.

Marshall e Brown (1975) postularam que uma amostragem ótima no campo seria capaz de obter, com 95% de certeza, todos os alelos que ocorrem com frequencia maior que 5% em uma população. Para efeitos práticos, porém, sugeriram que a estratégia de coleta para espécies com pouca ou nenhuma informação disponível seria a obtenção de 50 a 100

indivíduos por sítio, amostrando-se o maior número de sítios possíveis, em locais que compreendessem ampla variação ambiental. Quando as informações fossem parciais, poderiam ser obtidos até menos que 50 indivíduos por sítio, porém em muitos sítios, de modo a maximizar a variabilidade genética existente nas coleções (MARSHALL; BROWN, 1975).

Vinte anos depois, reavaliando as teorias de amostragem para os principais cultivos, Brown e Marshall (1995) detectaram mudanças nas ações de coleta de recursos genéticos desde a década de 1970. A coleta entrara em uma nova fase envolvendo três elementos: coleta e conservação de germoplasma de espécies silvestres; o foco crescente sobre culturas de importância nacional ou local; e a reamostragem das principais culturas, para suprir lacunas específicas visando repor amostras perdidas ou mal representadas.

Como estratégia geral para diferentes espécies, mesmo que haja pouca ou nenhuma informação disponível sobre a estrutura genética da espécie-alvo, as seguintes recomendações são indicadas (VENCOVSKY, 1986; LLERAS, 1988; YONEZAWA, 1989; BROWN; MARSHALL, 1995; CROSSA; VENCOVSKY 1999):

a. Amostrar cerca de 50 populações em uma área ecogeográfica ou em uma expedição.

b. Amostrar cerca de 50 indivíduos em cada população.

c. Amostrar os indivíduos aleatoriamente em cada sítio, com amostras separadas para microambientes distintos, desde que o sítio seja heterogêneo.

d. Amostrar sementes ou materiais vegetativos, suficientes por planta, visando assegurar a representação de cada planta original em possíveis duplicatas.

e. Para conservar variabilidade genética de espécies alógamas, coletar sementes extensivamente e de forma casualizada em

cada população, com amostras pequenas de cada matriz, porém amostras de número igual ou aproximadamente igual por matriz, do maior número de populações.

f. Para conservar variabilidade genética de espécies autógamas, coletar sementes extensivamente e de forma casualizada em cada população, com amostras grandes de cada matriz, do maior número de populações.

g. Para ganhar tempo em programas de melhoramento, se for viável, coletar material vegetativo de matrizes consideradas de elite, procurando representar as mesmas dentro da amostra.

Entretanto essas recomendações impõem dificuldades práticas, dadas ao tempo limitado das expedições e ao caráter generalizado da coleta de germoplasma de grupos grandes, como as forrageiras (REID; STRICKLAND,1983). Essa dificuldade vale para todos os produtos que aglutinam vários táxons (p. ex.: florestais, medicinais) e para aqueles pertencentes a gêneros grandes (p. ex.: *Arachis*, *Manihot*, *Capsicum*). Do mesmo modo, a dificuldade é crítica para plantas propagadas por via vegetativa (HAWKES, 1970) e nas ações de resgate. Assim, ainda que, no plano teórico, as recomendações anteriores devam ser seguidas, na prática podem ser necessários ajustes. Valls (1990) comentou sobre isso ao criticar a aplicabilidade da teoria, impossível em muitos casos.

Como recomendação geral, portanto, é mais importante amostrar o máximo de locais (sítios/populações), com amostras tão grandes quanto possíveis, do que amostrar o número teoricamente ideal de plantas por local.

Espécies silvestres

Quando possível, as recomendações indicadas para espécies cultivadas deveriam ser adotadas na coleta de espécies silvestres. No entanto, existem problemas adicionais nesse grupo de plantas relacionados à

carência de informações sobre aspectos taxonômicos, ecológicos e genéticos, bem como à distribuição, biologia reprodutiva e seu modo de reprodução. Pode haver divergências genéticas entre populações de uma espécie silvestre, em muitos casos resultando em ecotipos. As áreas de distribuição geográfica podem ser muito variáveis, havendo desde espécies com distribuição restrita (endêmicas) e até as com distribuição ampla, porém disjunta. As variações naturais que ocorrem dentro e entre diferentes populações da espécie-alvo, em escala local e regional, afetam os períodos de reprodução. Pode ser naturalmente reduzido o número de indivíduos que uma população exibe. Essas são variações naturais. Como exemplo, muitas essências florestais brasileiras possuem menos do que um indivíduo por hectare e essa é sua abundância natural. Para obter as "50 populações", ou "50 indivíduos de cada população", seria necessário explorar milhares de hectares. E, por fim, as dificuldades para delimitar uma população no campo, em ambientes naturais, a qual dificilmente pode ser circunscrita em bases seguras.

O primeiro aspecto que deve ser considerado em coleta de espécies silvestres é a realização de um profundo levantamento bibliográfico, particularmente quanto à sua taxonomia e distribuição ecogeográfica. Essa revisão deve incluir todo o conjunto gênico (BOTHMER; SEBERG, 1995) e informações sobre espécies afins.

No campo, é relevante que o coletor saiba diferenciar variações morfológicas e eventuais adaptações ecológicas que possam ocorrer nos indivíduos das espécies que serão alvo da coleta. Adicionalmente, o coletor deve estar apto a diferenciar sítios com características ecológicas distintas, pois diferentes expressões fenotípicas nas plantas podem ser devidas às particularidades de cada sítio.

Algumas recomendações para a coleta de parentes silvestres das plantas cultivadas (CHAPMAN, 1989) podem ser estendidas às espécies silvestres como um todo, desde que o planejamento prévio seja cuidadoso, com revisão bibliográfica, consultas a especialistas e visitas a herbários. São elas:

a. Definir quais espécies coletar, priorizando as utilizadas mais facilmente (pertencentes ao conjunto gênico primário das plantas cultivadas) e, quando necessário, incluindo as ameaçadas.

b. Definir as áreas onde coletar, com base na distribuição das espécies, inclusive as espécies afins em área de distribuição conhecida.

c. Realizar a coleta nos mais diversos tipos de sítios possíveis, tanto em termos geográficos quanto ecológicos.

d. Enfatizar número de sítios ao invés de número de indivíduos por sítio.

e. Amostrar os indivíduos aleatoriamente em cada sítio, separando-os por microambientes distintos, em sítios heterogêneos.

f. Amostrar extensivamente em cada população definida, com amostras grandes de cada matriz, do maior número de matrizes, e de populações.

O coletor deve ajustar as recomendações de coleta a cada situação de campo, considerando fatores ecológicos, edafoclimáticos, genéticos e também logísticos, sempre utilizando o bom senso. O planejamento é muito mais barato do que a missão de coleta em si, sendo fundamental para que bons resultados possam ser obtidos (CHAPMAN, 1989).

Com relação à falta de conhecimentos sobre as características genéticas das espécies ou populações silvestres, a partir da década de 1990 o problema passou a ter solução rápida, com o desenvolvimento de técnicas moleculares para análise genética (BERNATSKY; TANKSLEY, 1989; BOTHMER; SEBERG, 1995; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995; FERREIRA, 2001). As mesmas técnicas valem para ações de conservação ex situ e in situ, de caracterização e avaliações da diversidade genética (GANDARA et al., 1997; FERREIRA, 2001).

A coleta e a conservação ex situ de espécies silvestres ainda oferecem espaços para experimentação. Mesmo que a coleta dessas espécies tenha aumentado nas últimas duas décadas, essa tendência ainda deverá consolidar-se (BROWN; MARSHALL, 1995). As pressões sobre os ecossistemas naturais tornam necessário assegurar a conservação da diversidade vegetal, particularmente daquelas espécies que sejam recursos, úteis ao ser humano.

Aspectos Práticos da Coleta de Germoplasma

Para efeitos práticos, a coleta de germoplasma pode ser subdividida em três etapas sequenciais e complementares: a pré-coleta, a coleta (em sentido estrito) e a pós-coleta (VIEIRA, 1996; WALTER; CAVALCANTI, 1997).

Pré-coleta

Pré-coleta compreende as atividades ou o planejamento de natureza técnica e logística que deve ser conduzido antes da realização de uma expedição.

O planejamento técnico envolve (HAWKES, 1976; HAWKES, 1980; LLERAS, 1988; CHAPMAN, 1989; ENGELS et al.,1995):

a. Um levantamento bibliográfico extensivo sobre a espécie-alvo, ou produto, ou grupo de plantas a serem coletadas.

b. A consulta a herbários, visando obter informações nas etiquetas das exsicatas, bem como consulta aos especialistas (taxonomistas, melhoristas, geneticistas) que trabalham com as plantas-alvo.

c. A definição das estratégias de coleta apropriadas para a espécie-alvo e para a região a ser percorrida, definindo o material a

ser coletado (sementes, material vegetativo, pólen etc.), a época do ano mais adequada e a sugestão de itinerário.

d. O estabelecimento de estratégias sobre o destino que será dado ao material coletado, definido por contato com instituições detentoras de bancos de germoplasma, depositárias de parte das amostras para conservação, uso direto ou pesquisa.

e. O levantamento da documentação necessária para seguir a legislação pertinente à coleta e remessa de material biológico, respeitando unidades de conservação, áreas indígenas e propriedades particulares.

f. A definição do tempo (período) necessário para a consecução dos objetivos da expedição.

g. A definição dos equipamentos que serão utilizados e as estratégias de amostragem.

h. A necessidade de realização de exploração preliminar (prospecções) nas áreas definidas para a missão de coleta.

O planejamento logístico, que deve ser feito em paralelo ao planejamento técnico, envolve (HAWKES, 1976; HAWKES, 1980; ENGELS et al., 1995):

a. A definição do tamanho e composição da equipe de campo.

b. b) O meio de transporte necessário, em consonância com o equipamento necessário e as estimativas sobre o volume de material a ser coletado.

c. A sugestão de itinerário, ou roteiro de viagem detalhado, com períodos pré-definidos de coleta em cada local, contendo os principais trechos a serem percorridos.

d. A realização de contatos prévios com órgãos públicos e (ou) privados para apoio durante a expedição, com a previsão do possível envio de material durante a expedição.

Os aspectos mais relevantes desse planejamento são comentados a seguir.

Requisitos para uma coleta

A realização de um extenso levantamento bibliográfico sobre a espécie-alvo e a consulta a especialistas e a herbários são requisitos que, de alguma forma, precedem as demais etapas do planejamento e da execução posterior de uma expedição de coleta. São essas informações que fornecem as justificativas necessárias para uma missão. Justificativas de coleta tecnicamente bem embasadas permitem captar com mais facilidade os recursos financeiros que possibilitam a realização da expedição.

Com base na literatura, é possível obter dados sobre distribuição geográfica, descrição botânica – com características morfológicas de fácil identificação –, épocas de floração e frutificação, sítios preferenciais de ocorrência, nomes vulgares em diferentes regiões, formas de utilização econômica e, apesar de raro, frequência, modo de reprodução e biologia reprodutiva. Sobre as espécies cultivadas, podem ser obtidos dados referentes às épocas de produção e colheita em diferentes regiões, localização dos centros de diversificação, ocorrência de raças locais, suscetibilidade da cultura às diferentes condições edafoclimáticas e problemas fitossanitários. Esse tipo de informação pode ser útil na busca por materiais resistentes ou adaptados a solos ácidos, salinos, mal drenados, bem como a altitude e latitude.

A informação é complementada pela consulta a herbários. Frequentemente, amplia-se o conhecimento disponível sobre a distribuição da espécie, sobre a ocorrência de variáveis morfológicas (plasticidade fenotípica) e eventuais variações fenológicas.

Caso as informações necessárias não tenham sido encontradas na literatura formal e nos herbários, sejam escassas, incompletas ou mesmo faltem, é possível que especialistas de diferentes áreas, como os da taxonomia, genética ou recursos genéticos, supram a deficiência. Definidas

as espécies (ou produtos) e estabelecido que uma missão de coleta será necessária, devem ser iniciadas as ações operacionais.

Planos gerais

Na pré-coleta são estabelecidas as estratégias de amostragem, considerando as espécies, a região, a época do ano, a duração da expedição e o tipo de germoplasma que se espera obter, assim como o número de expedições necessárias para que toda a área possa ser explorada. Coletas que buscam sementes têm procedimentos, equipamentos e material diferente daquelas visando a materiais vegetativos ou outras formas de obtenção de germoplasma (HARLAN, 1975; HAWKES, 1975).

O destino do material coletado é um aspecto fundamental. Os possíveis receptores em bancos ativos de germoplasma (BAGs) ou coleções devem estar preparados para a recepção, manipulação e preparação do germoplasma.

Legislação e documentação

O coletor de germoplasma deve estar ciente da legislação que regulamenta sua atividade, ainda que ela esteja em plena discussão e passando por mudanças nos dias atuais. Para conhecer seu conteúdo, o acesso pode ser via internet ou por meio de consultas aos órgãos governamentais que cuidam do meio ambiente, agricultura, ciência e tecnologia ou instituições de pesquisas como a Embrapa ou o IAC.

Para a coleta em áreas específicas de competência federal, como parques ou reservas, assim como em áreas indígenas, há uma regulamentação própria que é regida pelo Ministério do Meio Ambiente e pela Fundação Nacional do Índio (Funai). No âmbito estadual e municipal, também existe legislação pertinente que regulamenta a coleta e a entrada nas unidades de conservação. Assim, havendo a necessidade de se coletar em tais áreas, todo o encaminhamento burocrático junto a esses órgãos deve ser verificado e seguido. Igualmente, a coleta de plantas

ameaçadas também é regulamentada por regras específicas e isso deve ser considerado.

Equipe de coleta

Para coleta de germoplasma, preferencialmente devem ser formadas equipes multidisciplinares envolvendo taxonomistas dos grupos a serem coletados, geneticistas ou melhoristas que trabalhem com o produto, cientistas sociais, etnobotânicos, extensionistas, além de técnicos de campo; sempre adequados ao transporte utilizado. É essencial que pelo menos um dos membros domine o idioma das regiões que serão percorridas (ENGELS et al., 1995).

Quando a coleta visa algum produto específico, o conhecimento especializado sobre o mesmo é fundamental, ao passo que, em coletas gerais, de varredura, nas quais vários produtos estarão incluídos, a escolha da equipe é menos importante do que a escolha da área (CREECH, 1970).

A inclusão de pessoas das comunidades que serão visitadas em determinados períodos da missão pode ser de grande valia. Por conhecerem a região e seus costumes, podem indicar sítios importantes de coleta, tornando a atividade participativa (CHRISTINCK et al., 2000). Do mesmo modo, manter contatos prévios com empresas de extensão rural, ou ONGs que trabalhem nas regiões-alvo, também é desejável pelas vantagens de aumento da eficiência.

Transporte

Os meios de transporte em missões de coleta devem considerar o espaço para os membros da equipe, para o material coletado e todo o equipamento.

Itinerário

Após as deliberações do planejamento técnico, e assim que forem definidas as regiões que serão ser exploradas, deverá ser planejado um

itinerário. Para traçar itinerários, deve-se consultar mapas rodoviários, cartas geográficas, mapas de clima, solos, de hidrografia, altitude e vegetação. Atualmente é cada vez mais aconselhável o uso de outras ferramentas modernas que permitem um detalhamento acurado. Pode-se utilizar imagens de satélites e fotografias aéreas das áreas que serão percorridas, bem como fontes na internet. Procedimentos tecnológicos cada vez mais eficientes devem ser usados em uma viagem de prospecção ou coleta, pelo uso de computadores portáteis (Lap-top) acoplados a um receptor GPS (*Global Positioning System* – Sistema de Posicionamento Global).

Quando se planeja um itinerário, é interessante que as bases de apoio sejam definidas com antecedência e, no caso de hospedagem em hotéis, que eles sejam contatados previamente e marcadas as datas e possíveis horários de chegada. Nos casos em que as bases sejam acampamentos, é fundamental que os locais tenham sido previamente reconhecidos por algum dos membros da equipe, ou que existam informações seguras de que determinados locais possuem estrutura e segurança para a instalação dos acampamentos. Nessas situações, a proximidade de fontes de água é capital.

Se a expedição prevê coleta em regiões inóspitas, e se o material coletado apresenta riscos de perda de viabilidade, de tempos em tempos deve ser previsto o retorno de parte da equipe para alguma base (cidades ou vilas com estrutura maior), onde o germoplasma será enviado via correio, ou outro mecanismo, para o seu destino de conservação ou uso.

Equipamentos e materiais

Listar previamente os equipamentos e materiais necessários para uma missão de campo é uma tarefa simples, porém de grande relevância. Essa lista é importante para que nada sobre ou falte, possibilitando realizar as várias ações planejadas (BENNETT, 1970; WALTER, 1993).

Conforme sugestão de Bennett (1970), todas as necessidades por materiais e equipamentos de campo devem ser previamente planejadas e incluídas entre aqueles que serão levados já na partida da expedição, ainda que seja possível retornar a uma base maior periodicamente para renovar os estoques e enviar o germoplasma.

Proposta para uma expedição de coleta

Para colocar um plano de coleta em prática, todos os aspectos que envolvem a missão já deverão estar planejados e, muitas vezes, deverão estar contemplados em uma proposta escrita ou projeto. Ainda que normalmente as expedições de coleta sejam financiadas pelas instituições dos coletores, é comum a necessidade de captar recursos financeiros em outras fontes.

Uma proposta de coleta deve conter informações sobre o que, onde, por que, quando, como e quem vai conduzir a coleta (ENGELS et al., 1995). Isso inclui o seguinte resultado da pré-coleta: (a) justificativa da coleta por área e por espécie; (b) lista de prioridades por espécies-alvo, ou grupos de produtos; (c) mapa indicando os locais de coleta na região ou nas áreas-alvo; (d) itinerário que inclua datas em cada local e o meio de transporte utilizado; (e) uma descrição das atividades após a coleta, como, por exemplo, conservação, caracterização, avaliação e uso; (f) lista com o pessoal e as instituições envolvidas, e suas respectivas atribuições; (g) um orçamento, baseado no tamanho da equipe, período necessário no campo, distância a ser percorrida, tipos de transporte e equipamentos necessários.

Coleta (no campo)

Em sentido estrito, coleta é a etapa efetiva de campo. Uma vez no campo é aconselhável estabelecer rotina diária de identificar sítios, realizar as coletas, manejar o germoplasma e herborizar o material de herbário (ENGELS et al. 1995). Dependendo da região, do clima e do tipo

de material a ser coletado, o horário das coletas deve ser considerado, especialmente em locais com extremos climáticos ou doenças endêmicas. Nas coletas, deve-se estar preparado para situações excepcionais, como estradas que se tornam intransitáveis, chuvas intermitentes, etc. (HAWKES, 1976; WALTER, 1993; ENGELS et al., 1995).

Alguns procedimentos simples devem ser seguidos para otimizar as ações, de modo que a coleta assegure amostragem representativa do germoplasma e material de herbário associado (MILLER; NYBERG, 1995). Cada acesso deve ser detalhadamente documentado e o germoplasma acondicionado temporariamente de forma a manter a sua integridade e viabilidade pelo maior período possível, antes de sua incorporação ao banco de germoplasma.

Amostragem no campo

Nos sítios de coleta, cada população deve ser amostrada considerando seu tamanho, densidade, extensão e, se possível, a distribuição espacial em escala local, seguindo as estratégias definidas na pré-coleta. O número mínimo de indivíduos em cada população e a distância entre eles é definida por limites entre os pontos de coleta. Para evitar amostragem de indivíduos altamente relacionados, procura-se determinar a área mínima a ser explorada por população. Áreas ecologicamente uniformes e distintas é que são consideradas como sítios de coleta (ENGELS et al. 1995).

No caso de espécies silvestres, e para muitas cultivadas, a definição de uma população no campo quase sempre é problemática. Vários critérios subjetivos já foram sugeridos na literatura e, com base em Bennett (1970), os principais são:

a. Diferenças nos cultivos como variedades distintas, maturidade e incidência de doenças ou pragas.

b. Mudanças nas condições ecológicas e agrícolas, como irrigação, manejo da planta e do solo, métodos de cultivo, tipo de solo.

c. Ocorrência de divisões topográficas ou sociais, como montanhas, rios, vales, planaltos ou lagos dividindo áreas e comunidades humanas.

d. Diferenças ecológicas ou fitofisionômicas naturais, com mudanças na densidade natural das comunidades vegetais.

e. Mudanças a cada 10 km ou 20 km, de acordo com a natureza do terreno.

Na prática de coleta, são critérios como esses que os coletores adotam para diferenciar populações e delimitar seus acessos, ainda que não se garanta nenhuma barreira biológica efetiva entre as populações reais.

Dados de passaporte

No momento da coleta, devem ser anotadas informações que identifiquem o acesso, o que deve ser feito da maneira mais criteriosa e acurada possível. Para plantas vivas, essas informações são chamadas "dados de passaporte", e incluem a localização geográfica, topografia, hábitat, data, número de amostras, frequência de indivíduos na população e seu contexto na comunidade, características intrínsecas do acesso e número de plantas que o compõem.

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia adota um tipo de caderneta de campo criada especialmente para coleta de germoplasma, em que os dados mais relevantes, para a maioria dos produtos, foram considerados. Esses dados incluem espaço para nome científico, família botânica, nome comum local, hábito de crescimento, cor da flor e do fruto, interesse econômico, tipo de material, ambiente de ocorrência do espécime, tipo de substrato, relevo, frequência de ocorrência da espécie no local, detalhes geográficos do local, código do produto e do acesso, nome

e número do coletor (ou coletores), nome do determinador do espécime e data da coleta. Entretanto cadernetas e informações outras podem ser elaboradas especialmente para atender particularidades de certos produtos.

Manuseio do germoplasma durante a expedição

Depois da coleta do germoplasma e anotados os dados de passaporte, o material deve ser acondicionado de forma a mantê-lo viável pelo restante da expedição. Por garantia, é necessário conferir periodicamente o estado desses materiais ao longo da missão, assegurando sua sanidade, viabilidade e identificação correta (ENGELS et al. 1995). Entre os principais procedimentos estão: (a) verificar as amostras dos propágulos e do herbário em períodos regulares, prevenindo-se a incidência de pragas e doenças; (b) para a secagem, utilizar dessecantes como, por exemplo, sílica-gel, para minimizar riscos de deterioração das amostras; (c) acondicionar apropriadamente frutos ou bulbos; (d) no caso de mudas em sacos plásticos, fornecer água às mesmas, levando em conta a necessidade de cada espécie e o substrato de armazenamento; (e) para espécies sujeitas à rápida perda de viabilidade (como sementes recalcitrantes), antecipar o envio dos acessos antes do término da missão; (f) acondicionar o material no veículo cuidadosamente, de forma a evitar danos aos propágulos e ao material de herbário; (g) herborizar diariamente os espécimes de herbário coletados, o que significa prensagem preliminar no campo, arrumação e prensagem definitiva das duplicatas e secagem na estufa de campo, ou acondicionamento adequado para posterior secagem na instituição. Os materiais que foram prensados e secos no dia anterior devem ser retirados da estufa e acondicionados.

Pós-coleta

Terminada a etapa de campo, imediatamente devem ser iniciadas as atividades de pós-coleta. Por pós-coleta, entende-se as atividades de natureza técnica e prática que devem ser conduzidas após a realização de uma expedição e que completam a missão.

Entre as mais relevantes, muitas realizadas de forma simultânea, citam-se (ENGELS et al. 1995):

a. Triagem e tratamento dos acessos de germoplasma-semente e plantio das mudas.

b. Complementação da caderneta de campo, dando a cada acesso os respectivos códigos de produto e de acesso (BRA), iniciando a digitação dos dados coletados.

c. Distribuição de amostras do germoplasma para conservação.

d. Organização do material de herbário, conferindo a identificação dos espécimes e do coletor, finalizando a herborização.

e. Preparação de relatório sobre a expedição, incluindo material fotográfico.

Na triagem do material vivo, deve ser feita fumigação visando eliminar possíveis pragas ou patógenos. Dependendo do destino do germoplasma, pode ser necessária a emissão de um certificado fitossanitário atestando a segurança do material.

Depois do tratamento, as sementes com comportamento ortodoxo devem ser encaminhadas para câmaras de conservação em longo prazo. Para as recalcitrantes ou materiais para estudos básicos, deve-se enviá-las aos bancos ou coleções de germoplasma para semeadura. Casos específicos, como a coleta de frutos frescos, exigem manejo diferenciado (TOLL, 1995), obedecendo aos critérios: (a) depois de separar as sementes do fruto, remover a polpa ou as partes gelatinosas com o auxílio de água; (b) colocar as sementes para secar a sombra; (c) quando as sementes estiverem secas, remover quaisquer vestígios de material gelatinoso que ainda houver.

Quanto aos espécimes de herbário, eles devem passar por um processo de fumigação com fosfina (ou produto similar), acondicionamento

em armários provisórios, para montagem e incorporação das exsicatas, conforme rotinas de herbário.

A atividade que finaliza a pós-coleta e, desse modo, encerra uma missão é a preparação de um relatório. Nesse relatório, devem constar as metodologias utilizadas, os locais percorridos, uma lista do germoplasma coletado, dos materiais de herbário, de observações pertinentes e demais dados relevantes da missão. Fazer esse relatório é importante na medida em que os dados ficam reunidos em um documento formal, que poderá ser utilizado posteriormente no auxílio e planejamento de outras missões que venham a ocorrer. As informações neles contidas poderão vir a ter maior divulgação, em veículos de maior difusão, desde os dados e informações acumuladas mereçam essa divulgação mais ampla.

Referências

ALLARD, R. W. Population structure and sampling methods. In: FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. (Ed.). **Genetic resources in plants**: their exploration and conservation. Oxford: Blackwell, 1970. p. 97-107. (IBP. Handbook, 11).

ARORA, R. K. Plant genetic resources exploration and collection: planning and logistics. In: MEHRA, K. L.; ARORA, R. K.; WADIH, S. R. **Plant exploration and collection**. New Delhi: National Bureau of Plant Genetic Resources, 1981. p. 46-54.

BALICK, M. J. Collecting tropical plant germplasm. In: CAMPBELL, D. G.; HAMMOND, H. D. (Ed.). **Floristic inventory of tropical countries**. New York: The New York Botanical Garden: World Wildlife Fund, 1989. p. 476-481.

BENNETT, E. Tactics of plant exploration. In: FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. (Ed.). **Genetic resources in plants**: their exploration and conservation. Oxford: Blackwell, 1970. p. 157-179. (IBP. Handbook, 11).

BERNATSKY, R.; TANKSLEY, S. D. Restriction fragments as molecular markers for germplasm evaluation and utilization. In: BROWN, A. H. D.; FRANKEL, O. H.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **The use of plant genetic resources.** Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 353-362.

BOTHMER, R. V.; SEBERG, O. Strategies for the collecting of wild species. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity:** technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 93-111.

BROWN, A. H. D.; FRANKEL, O. H.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **The use of plant genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 382 p.

BROWN, A. H. D.; MARSHALL, D. R. A basic sampling strategy: theory and practice. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 375-391.

CHAPMAN, C. G. D. Collection strategies for wild relatives of field crops. In: BROWN, A. H. D.; FRANKEL, O. H.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **The use of plant genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 263-279.

CHRISTINCK, A.; VOM BROCKE, K.; KSHIRSAGAR, K. G.; WELTZIEN, E.; BRAMEL-COX, P. J. Participatory methods for collecting germplasm: experiences with farmers in Rajasthan, India. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Rome, n. 121, p. 1-9, 2000.

CREECH, J. L. Tactics of exploration and collection. In: FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. (Ed.). **Genetic resources in plants**: their exploration and conservation. Oxford: Blackwell, 1970. p. 221-229. (IBP. Handbook, 11).

CROSSA, J.; VENCOVSKY, R. Sample size variance effective population size for genetic resources conservation. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Rome, n. 119, p. 15-25, 1999. Suppl.

ENGELS, J. M. M.; ARORA, R. K.; GUARINO, L. An introduction to plant germplasm exploration and collecting: planning, methods and procedures follow-up. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 31-63.

FERREIRA, M. E. Técnicas e estratégias para caracterização molecular e uso de recursos genéticos. In: GARAY, I.; DIAS, B. (Org.). **Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais**: avanços conceituais e revisão de metodologias de avaliação e monitoramento. Petrópolis: Vozes. 2001. p. 233-267.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220 p. (EMBRAPA–CENARGEN. Documentos, 20).

FORD-LLOYD, B.; JACKSON, M. **Plant genetic resources**: an introduction to their conservation and use. London: E. Arnold, 1986. 146 p.

FRANKEL, O. H. Conservation of crop genetic resources and their wild relatives: an overview. In: HAWKES, J. G. (Ed.). **Conservation and agriculture**. London: Duckworth, 1978. p. 123-149.

FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. (Ed.). **Genetic resources in plants**: their exploration and conservation. Oxford: Blackwell, 1970. 554 p. (IBP. Handbook, 11).

FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. (Ed.). **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. 492 p.

GANDARA, F. B.; GRATTAPAGLIA, D.; KAGEYAMA, P. Y.; BATISTA, J. L. F.; CIAMPI, A. Y.; WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; UDRY, C.; ABDALA, G. Towards the development of genetic and ecological parameters for in situ conservation of forest genetic resources. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON BIODIVERSITY MONITORING IN FEDERAL PROTECTED AREAS: DEFINING THE METHODOLOGY, 1997, Pirenópolis. **Proceedings and papers.** Brasília, DF: IBAMA: GTZ, 1997. p. 95-111.

GIACOMETTI, D. C. Estratégia de coleta e conservação de germoplasma hortícola da América Tropical. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE ESPÉCIES HORTÍCOLAS, 1. 1990, Campinas. **Anais**... Campinas: Fundação Cargill, 1990. p. 91-112.

GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford, UK: CAB International, 1995. 748 p.

HARLAN, J. R. Seed crops. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. (Ed.). **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 111-115.

HAWKES, J. G. **Crop genetic resources field collection manual**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources: European Association for Research on Plant Breeding, 1980. 37 p.

HAWKES, J. G. The conservation of short-lived asexually propagated plants. In: FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. (Ed.). **Genetic resources in plants**: their exploration and conservation. Oxford: Blackwell, 1970. p. 495-499. (IBP. Handbook, 11).

HAWKES, J. G. **The diversity of crop plants**. Cambridge: Harward University Press, 1983. 184 p.

HAWKES, J. G. Vegetatively propagated crops. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. (Ed.). **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 117-121.

HAWKES, J. **Manual for field collectors**: seed crops. Rome: FAO, 1976. 34 p.

HOEKSTRA, F. A. Collecting pollen for genetic resources conservation. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 527-550.

HOYT, E. **Conservação dos parentes silvestres das plantas cultivadas**. Wilmington, Delaware: Addison-Wesley Iberoamericana, 1992. 52 p.

IBPGR. **The potential for using in vitro techniques for collecting germplasm**. Rome, 1984. 8 p.

KURLOVICH, B. S.; REP'EV, S. I.; PETROVA, M. V.; BURAVTSEVA, T.V.; KARTUZOVA, L. T.; VOLUZNEVA, T. A. The significance of Vavilov's scientific expeditions and ideas for development and use of legume genetic resources. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Rome, n. 124, p. 23-32, 2000.

LLERAS, E. Coleta de recursos genéticos vegetais. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais**... Jaboticabal: FCAV, 1988. p. 23-42.

LOSKUTOV, I. G. **Vavilov and his institute**: a history of the world collection of plant genetic resources in Russia. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1999. 188 p.

MARSHALL, D. R.; BROWN, A. H. D. Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. (Ed.). **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 53-80.

MILLER, A. G.; NYBERG, J. A. Collecting herbarium vouchers. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 561-573.

MOONEY, P. R. **O escândalo das sementes**: o domínio na produção de alimentos. São Paulo: Nobel, 1987. 146 p.

OKADA, K. A. Principios sobre exploracion y recoleccion de recursos fitogenéticos. In: CASTILLO, R.; ESTRELLA, J.; TAPIA, B. (Ed.) **Técnicas para el manejo y uso de los recursos fitogenéticos**. Quito: Departamento de Recursos Fitogenéticos, INIAP, 1991. p. 41-51.

PENCE, V. C.; SANDOVAL, J. A.; VILLALOBOS, V. M. A.; ENGELMANN, F. (Ed.). **In vitro collecting techniques for germplasm conservation**. Rome: IPGRI, 2002. (Technical Bulletin, 7).

PLUCKNETT, D. L.; SMITH, N. J. H.; WILLIAMS, J. T.; ANISHETTY, N. M. **Gene banks and the world´s food.** New Jersey: Princeton University Press, 1987. 247 p.

PRESCOTT-ALLEN, R.; PRESCOTT-ALLEN, C. How many plants feed the world? **Conservation Biology**, Boston, v. 4, n. 4, p. 365-374, 1990.

REID, R.; STRICKLAND, R. W. Forage plant collection in practice. In: McIVOR, J. G.; BRAY, R. A. (Ed.). **Genetic resources of forage plants.** Melbourne: CSIRO, 1983.

TOLL, J. A. Processing of germplasm, associated material and data, In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford, UK: CAB International, 1995. p. 577-595.

VALLS, J. F. M. A busca de germoplasma de plantas forrageiras e estratégias para sua coleta. In: PUIGNAU, J. P. **Introducción, consercacion y evaluacion de germoplasma forragero en el cono sur.** Montevideo: IICA, 1990. p. 309-318. (IICA/PROCISUR. Dialogo, 28).

VAVILOV, N. I. **Origin and geography of cultivated plants.** Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 497 p.

VAVILOV, N. I. Phytogeografic basis of plant breeding. **Chronica Botanica**, New York, v. 13, n. 1/6, p. 14-54, 1949/50.

VENCOVSKY, R. **Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1986. 15 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Boletim de Pesquisa, 1).

VIEIRA, R. F. Aspectos práticos da coleta de germoplasma. In: PUIGNAU, J. P.; CUNHA, R. (Ed.). **Conservacion de germoplasma vegetal**. Montevideu: IICA, 1996. p. 75-84. (IICA/PROCISUR. Dialogo, 45).

WALTER, B. M. T. Resgate de flora na Hidrelétrica Serra da Mesa, Goiás. In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. (Org.). **Tópicos atuais em botânica**. Brasília, DF: SBB: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. p. 360-365. (Palestras convidadas do 51º Congresso Nacional de Botânica).

WALTER, B. M. T. **Técnicas de coleta de material botânico arbóreo**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1993. 53 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 15).

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. Aspectos técnicos sobre coleta de germoplasma. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1., 1997. **Programa e resumos.** Campinas: IAC; Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1997. p. 28-29.

WEATHERFORD, J. **Indian givers**: how the indians of the Americas transformed the world. New York: Fawcett Columbine, 1988. 272 p.

WILKES, G. Germplasm collections: their use, potential, social responsibility and genetic vulnerability. In: BUXTON, D. R.; SHIBLES, R.; FORSBERG, R. A.; BLAD, B. L.; ASAY, K. H.; PAULSEN, G. M.; WILSON, R. F. (Ed.). **International crop science**: I. Madison: Crop Science Society of America, 1993. p. 445-450. Based on the International Crop Science Congress, Ames, Iowa, 1992.

WITHERS, L. A. Collecting in vitro for genetic resources conservation. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford, UK: CAB International, 1995. p. 511-525.

WITHERS, L. A. In vitro conservation and germplasm utilization. In: BROWN, A. H. D.; FRANKEL, O. H.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **The use of plant genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. p. 309-334.

YONEZAWA, K. Appropriate size of sample collecting germplasms from natural plant populations. In: JICA. **Exploration and collection of plant genetic resources**: part 1: seed-propagated crops. Japan: JICA, 1989. (Technical Assistance Activities for Genetic Resources Projects. n. 2). p. 37-67.

ZEDAN, H. Loss of plant diversity: a call for action. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity: technical guidelines**. Wallingford: CAB International, 1995. p. 9-14.

5

Conservação de Germoplasma-Semente em Longo Prazo

Maria Magaly Velloso da Silva Wetzel
Dijalma Barbosa da Silva
Antonieta Nassif Salomão
Leonel Gonçalves Pereira Neto
Marta Gomes Rodrigues Faiad

Introdução

A dependência da humanidade por recursos genéticos é total e indiscutível. Dessa forma, a sua conservação é estratégica e de fundamental importância para a preservação de fontes de genes para os programas de melhoramento e para segurança alimentar da população mundial. Não existiria atividade agrícola sustentável em um país se não houvesse disponibilidade de recursos genéticos devidamente documentados e preservados.

Os Recursos Genéticos Vegetais, representados pela variabilidade das espécies de plantas de interesse socioeconômico, integrantes da biodiversidade, constituem a base da cadeia alimentar do homem, além de atender inúmeras de suas necessidades, como combustível, vestuário e medicamentos. Conservar esses recursos em condições ideais, permitindo a manutenção de sua integridade genética, é um dever de todas as nações.

A conservação de recursos genéticos vegetais é definida como o armazenamento e a guarda do germoplasma, em condições ideais, que permitam a manutenção de sua integridade (VALOIS et al., 1996). Dois tipos de conservação complementar são reconhecidos e adotados pela Convenção da Diversidade Biológica (UNEP, 1992):

a. Conservação in situ, na qual são conservadas as populações de espécies nativas em seu habitat natural, onde há continuidade da evolução e adaptação ao ambiente.

b. Conservação ex situ, na qual é conservada a variação genética das espécies fora do seu habitat natural.

Vários métodos existem para se efetuar a conservação ex situ, como, por exemplo, coleções armazenadas na forma de sementes, propágulos, meristemas, embriões e plantas, em câmaras frias, criotanques ou a campo.

A conservação ex situ pode ser realizada em curto, médio e longo prazos, dependendo da característica da espécie. A conservação em curto e médio prazos de sementes ou plantas é realizada nos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs), sendo denominada de Coleção Ativa, localizados em várias instituições de pesquisa agrícola do País. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília, DF, coordena a Rede Nacional de Recursos Genéticos (Renargen), com, aproximadamente, 170 BAGs de espécies vegetais, animais e de microrganismos.

A conservação de germoplasma-semente em longo prazo é uma das principais metas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Essa atividade é desenvolvida através de um Banco de Germoplasma-semente denominada de Coleção de Base de Germoplasma-semente (Colbase), criado em 1976. Os principais objetivos da Colbase são:

a. Manutenção de coleções de genótipos, devidamente caracterizados e avaliados, para utilização nos programas de melhoramento genético e processos biotecnológicos.

b. Garantia da sobrevivência das sementes de espécies ortodoxas de interesse socioeconômico e ecológico, assegurando, dessa forma, a manutenção de matéria-prima básica para uso agrícola, alimentar e ambiental.

c. Execução de pesquisas relacionadas à determinação de condições adequadas ao armazenamento das espécies vegetais e ao controle de qualidade.

Em atendimento às recentes normas de acesso ao patrimônio genético brasileiro, a Coleção de Base foi credenciada junto ao Conselho Gestor do Patrimônio Genético – CGEN como "Fiel Depositária" para abrigar todos os acessos de germoplasma-semente coletados pela Embrapa e as instituições componentes da Rede Nacional de Recursos Genéticos (Renargen).

O objetivo deste capítulo é apresentar algumas informações básicas sobre a conservação de recursos genéticos vegetais em longo prazo no Brasil, realizada pela da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, por meio da Coleção de Base.

Conservação de Germoplasma-Semente em Longo Prazo

Durante milhares de anos, o armazenamento de sementes foi praticado numa perspectiva de curto prazo, visando, apenas, a reserva de material para o plantio da próxima safra. Após o final do século 19, houve uma grande divulgação de trabalhos publicados nessa área. Em sua maioria, esses estudos objetivaram determinar as melhores condições para a manutenção da longevidade das sementes, analisando as mudanças ocorridas durante o armazenamento, em relação a sua capacidade de germinação, vigor e potencial de produção (JUSTICE; BASS, 1978). A partir da segunda metade do século 20, com a conscientização de que o ritmo acelerado das atividades agrícolas e antrópicas estavam colocando

em risco de extinção muitas espécies e variedades de vegetais, a conservação de sementes em longo prazo teve um grande impulso, mobilizando pesquisadores e instituições do mundo inteiro.

Um grande esforço foi realizado por meio de pesquisas, expedições de coleta e intercâmbio, visando resgatar o material genético silvestre e cultivado de valor real ou potencial, conservando-o em condições adequadas, para garantir sua viabilidade por muitos anos. Dessa forma, pequenas amostras de germoplasma - semente, de inúmeras espécies vegetais, foram reunidas em várias coleções, constituindo um acervo genético representativo de grande variabilidade genética. A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) reconheceu que a variabilidade genética de muitas espécies, especialmente de cereais, encontrava-se sob risco de perda (HAWKES, 1977). A FAO realizou três conferências técnicas internacionais, nos anos de 1962, 1967 e 1973, em que as duas últimas foram organizadas em conjunto com o International Biological Programme (IBP) (FRANKEL; BENNET, 1970; FRANKEL; HAWKES, 1975).

Em 1974, o Consultive Group on International Agriculture Research (CGIAR) criou o International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), hoje, International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), com o objetivo de deter a perda da diversidade genética vegetal, promover e coordenar uma rede internacional de centros de recursos genéticos, por meio de coleta, conservação, documentação, avaliação e uso dos recursos genéticos vegetais, contribuindo assim para a melhoria do padrão de vida e o bem-estar dos povos (IBPGR, 1984).

Em consonância com esses princípios e objetivos, em 22 de novembro de 1974, a Diretoria-Executiva da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), por meio da Deliberação N.º 096/74, publicada no Boletim de Comunicações Administrativa (BCA) N.º 43 de 09/12/74, criou o Centro Nacional de Recursos Genéticos (Cenargen) (EMBRAPA, 1977), hoje, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

(EMBRAPA, 1993), para acompanhar as diretrizes científicas mundiais, concernentes à importância dos recursos genéticos, preconizadas durante a Primeira Conferência Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada em Estocolmo, Suécia, em 1972.

Em 1974, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realizou um levantamento do germoplasma vegetal disponível para pesquisa no Brasil. Foram catalogadas 150 bases físicas, em que um total de 42 mil acessos de 90 diferentes produtos encontrava-se conservado. Em 1976, foi construída a primeira câmara de conservação de sementes em médio prazo, com temperatura de 10 ºC e umidade relativa de 25%, com capacidade para armazenar aproximadamente 7 mil acessos (EMBRAPA, 1977). No mesmo ano, foram armazenados 977 acessos de diversos produtos. Considerando que esse sistema de conservação não satisfazia às normas e condições necessárias para o armazenamento em longo prazo, em 1981, foi construído o Prédio de Conservação de Germoplasma (PCG) com laboratórios, salas de pesquisadores e câmaras para o armazenamento de sementes em médio e longo prazos. As câmaras frias funcionavam a -18 ºC, sem controle de umidade, e as sementes eram armazenadas com umidade variando de 3% a 7% e acondicionadas em embalagens, hermeticamente fechadas (EMBRAPA, 1984). Esse período foi muito promissor para a conservação dos recursos genéticos no Brasil. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia concentrou esforços na qualificação de pessoal, no estabelecimento de convênios com instituições internacionais e na execução de projetos de maior abrangência. As atividades de coleta, introdução e intercâmbio de germoplasma foram intensificadas, resultando na formação de um grande acervo de recursos genéticos.

Atualmente, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza a conservação de sementes em longo prazo em câmaras frias pré-moldadas (-20 ºC), com capacidade de armazenar aproximadamente 250 mil acessos.

Classificação Fisiológica das Sementes para Fins de Armazenamento

A semente é o começo e o fim; carrega a essência da carga hereditária; simboliza a multiplicação, a dispersão, a continuação, a inovação, a sobrevivência, a renovação e o nascimento (HEYDECKER, 1973). Além disso, as sementes podem ser manipuladas e transportadas com facilidade, pois ocupam pouco espaço; podem ser armazenadas por muitos anos; resistem a condições externas que poderiam ser fatais à planta-mãe; e sua propagação é relativamente fácil e econômica.

O armazenamento pode ser realizado assim que a semente atingir a maturidade fisiológica. Nesse estádio, a semente apresenta o valor máximo de germinação, vigor e qualidade fisiológica (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). O ponto de maturidade fisiológica, dentro de cada espécie, pode variar em função da cultivar e condições ambientais. As sementes que podem ser desidratadas sem perder seu poder germinativo podem ser conservadas em boas condições durante muito tempo.

Para que a semente seja armazenada, ela precisa estar viva. O período que a semente realmente vive é determinado pela interação entre os fatores genéticos e fatores ambientais, esse período recebe o nome de viabilidade. A viabilidade das sementes e, consequentemente, sua maior ou menor longevidade, dependem da interação de vários fatores, entre os quais, a umidade da semente e a temperatura de armazenamento devem ser consideradas. A perda da viabilidade pode ser evitada quando a semente tem seu metabolismo desacelerado. Temperaturas subzero reduzem a atividade metabólica da semente e evitam a sua deterioração. Semente que apresenta um baixo teor de água apresenta uma baixa atividade metabólica.

Para a maioria das espécies, quanto mais baixo for o teor de umidade das sementes, durante o seu armazenamento, maior será a sua longevidade. Sementes com alto teor de umidade podem perder a capacidade de germinação rapidamente (BASS,1973).

Baseado no comportamento fisiológico das sementes em relação à desidratação e tolerância a baixas temperaturas, foram definidas três categorias de sementes (ROBERTS, 1973; ELLIS et al., 1990; ELLIS et al.1991):

Ortodoxas – aquelas que se apresentam secas no estádio de maturação fisiológica e podem sofrer redução de seus teores de umidade para níveis em torno de 4% a 6%, sem que ocorram danos a suas estruturas, além de suportarem temperaturas subzero durante o período de armazenamento. Quando devidamente desidratadas, essas sementes podem ser conservadas em longo prazo sob temperaturas negativas. A maioria das culturas utilizadas na alimentação humana apresenta esse comportamento, como, por exemplo, arroz, milho, trigo, soja e feijão.

Recalcitrantes – aquelas que apresentam altos teores de umidade no estádio de maturação fisiológica, não toleram a secagem e não podem ser armazenadas em temperaturas abaixo de zero, tais como, seringueira, cacao e manga. A conservação de germoplasma dessas espécies tem sido realizada principalmente a campo, e, em menor escala, por meio de cultivo in vitro e criopreservação.

Intermediárias – aquelas que toleram a desidratação até níveis de aproximadamente 10% de umidade, mas não suportam o armazenamento em temperaturas negativas, como o café e citrus. Essas sementes têm sido conservadas apenas no médio prazo sob temperaturas de 5º C a 10º C.

Assim, de acordo com seu comportamento fisiológico, a longevidade das sementes pode variar de poucos dias a décadas. Sementes ortodoxas de cereais podem sobreviver por até 100 anos (ROOS, 1989).

Acervo de Recursos Genéticos Vegetais Conservados em Longo Prazo

A FAO (FAO, 1998), em seu último relatório sobre o status da conservação de recursos genéticos vegetais, estimou que aproximadamente a metade dos 6 milhões de acessos de germoplasma conservados em todo mundo encontra-se armazenado na forma de sementes ortodoxas. Desse total, 48% são constituídos pelos cereais, principalmente, trigo (14%), arroz (8%) e milho (5%); 16% são leguminosas alimentícias; 10% forrageiras; 8% hortaliças; 4% fruteiras; 4% raízes e tubérculos; 2% fibrosas; 2% oleaginosas e 6% outras.

Esses estoques de sementes encontram-se distribuídos em 75 países, e estão armazenados em condições de médio e longo prazos. Entre esses, 35 atendem aos padrões internacionais para conservação em longo prazo, sendo 15 na Europa, 7 nas Américas, 5 na Ásia, 4 na África e 4 nos países do Oriente Próximo.

O primeiro grande banco de germoplasma foi instalado por Vavilov, na União Soviética, antes da Segunda Guerra Mundial. Em seguida, foram estabelecidos os bancos dos Estados Unidos da América (1958), Ghana (1964), Japão (1996), Canadá (1970), Alemanha (1970), Itália (1970), Polônia (1971), Turquia (1972), Brasil (1974) e Etiópia (1976). No final dos anos 1970, até o momento, houve um grande incremento no número de bancos de germoplasma, totalizando mais de 1.300 bancos, dos quais 397 são mantidos sob condições de médio e longo prazos. Os Estados Unidos da América detém o maior número de acessos conservados em longo prazo (467 mil), seguido da China (358 mil) e Alemanha (160 mil). Os Estados Unidos da América apresenta a maior capacidade para o armazenamento de sementes em longo prazo (1 milhão de acessos), seguido da Índia, com capacidade de 600 mil.

As principais coleções conservadas em longo prazo em âmbito mundial são: arroz (142.915), trigo (102.525) e milho (65.396). O número de

acessos armazenado em longo prazo representa aproximadamente 14% de todo o germoplasma conservado.

Entre as maiores coleções, o arroz (34%), o milho (25%) e a soja (24%) apresentam as maiores proporções de acessos armazenados no longo prazo em relação ao total de acessos conservados.

No Brasil, estima-se que, aproximadamente, 200 mil acessos de germoplasma (KNUDSEN, 2000) estão sendo conservados no médio e longo prazos, distribuídos em cerca de 250 bancos ativos, localizados em unidades da Embrapa, empresas estaduais, institutos de pesquisa oficiais, universidades e empresas privadas, pertencentes ao Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA). A atividade de conservação de germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é realizada em estreita cooperação com os BAGs, por meio da atuação efetiva dos curadores de produtos e de bancos que são os responsáveis pela coleta, introdução, avaliação, caracterização, conservação e disponibilização do germoplasma.

Na Colbase estão sendo conservados 107 mil acessos de 210 gêneros e 652 espécies (cereais, leguminosas, forrageiras, oleaginosas, medicinais, hortícolas, florestais, corantes, fibrosas e estimulantes), correspondentes ao germoplasma de variedades e cultivares obsoletas, espécies silvestres, espécies afins, raças locais e indígenas.

Apesar de o Brasil incluir-se entre os países de maior biodiversidade do planeta, abrigando cerca de 50 mil espécies de plantas superiores (IUCN, 1996), com exceção da mandioca, a maioria das espécies consumidas na dieta doméstica não é de plantas nativas. Consequentemente, a quase totalidade dos acessos armazenados na Colbase é de espécie exótica. As principais espécies conservadas são cevada (*Hordeum vulgare*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), arroz (*Oryza sativa*), soja (*Glycine max*), trigo (*Triticum aestivum*), sorgo (*Sorghum bicolor*), caupi (*Vigna unguiculata*) e milho (*Zea mays*) (Tabela 1). Os cereais correspondem a mais de 50% dos acessos conservados.

Tabela 1. Principais coleções conservadas pela Embrapa nos Bancos Ativos de Germoplasma e na Coleção de Base até 2008. Brasília, DF, Brasil.

Coleção	Número de acesso nos BAGs[1]	Número de acesso na Colbase
Oryza	12.653	9.989
Hordeum[2]	1.880	29.227
Vigna	5.822	5.763
Phaseolus	13.616	14.070
Zea	3.819	4.149
Glycine	4.500	8.788
Sorghum	7.213	3.615
Triticum	12.370	5.644
Cucúrbita	4.294	1.904
Gossypium	2.210	3.181
Helianthus	2.575	2.312
Total	-	107.000

[1] Renargen (2008).
[2] Aproximadamente 10 mil acessos são duplicatas.

Em virtude da carência de informações ou mesmo recomendações específicas para armazenar sementes de espécies autóctones em condições convencionais e de banco de germoplasma em longo prazo, pesquisas com sementes de espécies nativas têm sido conduzidas na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, visando padronizar testes de germinação, umidade, sanidade e, sobretudo, determinar a tolerância à dessecação e ao congelamento em temperaturas subzero (-20 ºC e -196 ºC) (SALOMÃO et al., 1997; SALOMÃO, 2002). Protocolos para a conservação a -20 ºC já foram estabelecidos para algumas espécies com sementes ortodoxas. Cerca de 800 acessos dessas espécies encontram-se incorporados à Colbase e aproximadamente 1 mil acessos estão pré-armazenados a -20 ºC em freezers, para posterior incorporação à Coleção de Base.

A evolução da incorporação de acessos na Colbase ao longo dos anos tem sido variável dependendo da dinâmica dos processos de introdução, coleta e atividades dos BAGs (Figura 1). Excetuando o ano de 1982, quando parte da coleção internacional de cevada foi incorporada à Colbase, o fluxo médio de incorporação dos acessos tem oscilado de 3 mil a 3,5 mil por ano.

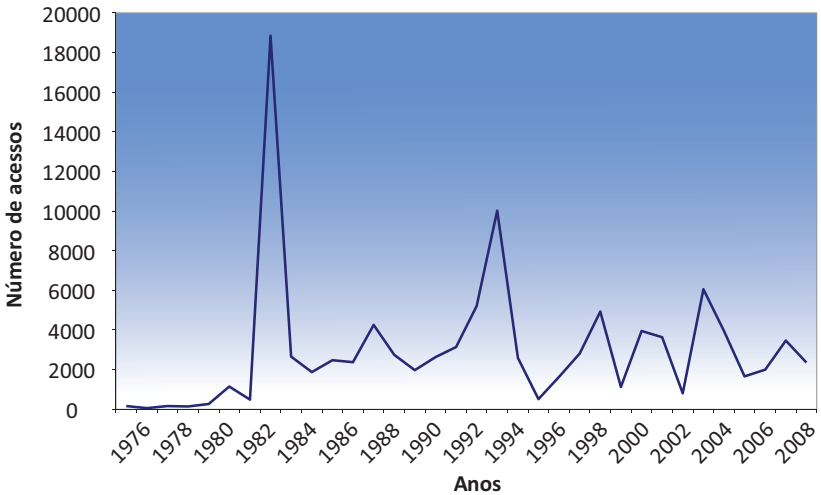


Figura 1. Evolução da incorporação dos acessos na Colbase no período de 1976 a 2008. Brasília, DF.

Entre as maiores coleções, estão caracterizados morfologicamente nos BAGs, 90% dos acessos de arroz, 60% de milho, 80% de soja, 90% de feijão, 55% de sorgo e 35% de algodão (WETZEL; BUSTAMANTE, 1999).

Visando agregar valor a esse acervo, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em conjunto com outras instituições de pesquisa, iniciou, nos últimos anos, o trabalho de elaboração de Coleções Nucleares. Essas coleções, constituídas por uma amostra representativa da variabilidade genética de uma dada espécie ou produto e com mínima repetitividade, são uma ferramenta de importância estratégica para otimizar o uso dos

recursos genéticos em programas de melhoramento. Foram organizadas, até o momento, as Coleções Nucleares de mandioca, arroz e milho.

Infraestrutura para a Conservação de Germoplasma-Semente em Longo Prazo

O Banco de Germoplasma-Semente da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia dispõe da seguinte infraestrutura:

- Câmaras frias: cinco câmaras frigoríficas pré-moldadas, operando à temperatura de -20 ºC e sem controle de umidade relativa para o armazenamento de sementes ortodoxas.
- Câmara no médio prazo: uma câmara com temperatura de 10 ºC e umidade de 25%, onde estão armazenadas as coleções de Arachis e outras espécies, principalmente, material de coleta.
- Câmara de espera: uma câmara com temperatura controlada de 10 ºC e umidade de 30% utilizada para o armazenamento em curto e médio prazos.
- Câmara de secagem: uma câmara mantida à temperatura de 20 ºC e umidade relativa de 18% utilizada para secagem das sementes.
- Casa de vegetação e telados: dois telados e duas casas de vegetação de uso comum com a pesquisa, os quais servem de suporte às atividades de multiplicação e (ou) regeneração de poucos acessos/produtos.
- Laboratórios de semente: formado por quatro salas: Sala de Documentação da Colbase, onde se realiza o registro dos acessos de germoplasma a serem incorporados à Colbase e a emissão de relatórios para orientar o manejo da coleção; Sala de Preparo de Amostras (SPA), onde são realizadas as atividades de beneficiamento, limpeza, amostragem, teste de umidade, se-

cagem e embalagem dos acessos a serem conservados; Sala de Controle de Qualidade e Fisiologia de Sementes (SCQ), onde são conduzidos testes de germinação e qualidade fisiológica das sementes, antes e durante o armazenamento; e a Sala de Patologia de Sementes (SPS), onde são conduzidos testes de qualidade sanitária das sementes, antes e durante o armazenamento.

Procedimentos para Operacionalização da Coleção de Base

Por meio de um sistema de documentação e informação, todas as atividades de conservação referentes a cada amostra por espécie é registrada, constituindo-se no banco de dados da Coleção de Base, módulo interativo do Sistema Brasileiro de Informação de Recursos Genéticos (Sibrargen) (CAJUEIRO, et al., 2002). O sistema utiliza os módulos de Passaporte, Registro e Conservação para o manejo dos dados.

No módulo de Passaporte, são registradas as seguintes informações: nome e código de gênero, nome e código da espécie, código do acesso (BRA) e denominação do acesso. No módulo Registro, são colocados o número do processo e as informações que identificam o acesso armazenado. No módulo Conservação, as informações de data de entrada, umidade, quantidade de sementes, localização do material nas Câmaras e data de armazenamento são registradas na tela (SPA); os resultados de germinação e a metodologia utilizada são colocados na tela (SCQ) e os dados de sanidade com os fungos detectados são listados na tela (SPS).

As informações sobre monitoração, distribuição, multiplicação e regeneração do material são registradas nas telas denominadas de remessa e de ação. O manejo do germoplasma com relação à incorporação e à monitoração dos acessos é realizado através de relatórios, que são sistematicamente remetidos ao curador e ao responsável do Banco Ativo de Germoplasma.

O enriquecimento da variabilidade genética da Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é obtido por meio da coleta, da introdução e do intercâmbio de germoplasma realizado com outras instituições e do aporte pelos respectivos Bancos Ativos de Germoplasma.

O armazenamento das sementes em Bancos de Germoplasma com situações controladas permite proteger as sementes da deterioração e prolongar a sua sobrevivência. Por isso, muita atenção deve ser dada ao manejo diário das sementes, para evitar danos que comprometam a viabilidade dos acessos de germoplasma.

A morte de uma semente pode significar a perda de um importante recurso genético. O manejo das sementes na Coleção de Base segue os padrões internacionais de qualidade de sementes estabelecidas pelo IPGRI (IBPGR, 1994; FAO, 1994) com algumas adequações (FAIAD et al., 1998).

As seguintes atividades são realizadas no processo de conservação em longo prazo na Colbase: (a) recebimento e registro de acessos para incorporação; (b) limpeza, homogeneização e amostragem; (c) teste de umidade; (d) secagem; (e) teste de germinação; (f) teste de sanidade; (g) contagem das sementes; (h) embalagem e armazenamento; e (i) monitoração do germoplasma.

a. Recebimento de acessos para incorporação

As amostras de germoplasma procedentes do intercâmbio e da quarentena da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, acompanhadas por carta, relatório de registro e laudos técnicos (quando o material for de trânsito externo), são encaminhadas à responsável pela documentação e protocolo da conservação, onde são identificadas e registradas. A classificação botânica da espécie, bem como a inclusão do código de identificação do acesso (BRA), é feita pelo curador de produto. Após a identificação dos acessos, procede-se a emissão de relatório de acompanhamento de processo para dar início às atividades para a incorporação do material na Colbase. Os acessos que não são trabalhados de imediato

ficam temporariamente armazenados na câmara de espera à temperatura de 5 ºC e 30% de umidade relativa.

b. Limpeza, homogeneização e amostragem

A limpeza da amostra pode ser feita por seleção manual, peneiramento ou utilizando-se de sopradores mecânicos para retirar as impurezas, sementes fragmentadas e chochas contidas na amostra.

Após a limpeza da amostra, ela passa pelo processo de homogeneização, que consiste em misturá-la no homogeneizador automático ou manualmente, pelo menos três vezes.

Em seguida, são tomadas subamostras, em coletor automático ou manualmente, quando as sementes são grandes, para a condução dos testes de germinação, sanidade e umidade. A amostra principal é armazenada na câmara de secagem, até que se obtenham os resultados das análises.

c. Teste de umidade

O teste de umidade inicial determina o conteúdo de umidade que as sementes são recebidas. Caso as sementes estejam com umidade acima dos valores recomendados (entre 3% e 7%) para a conservação em longo prazo, elas são desidratadas e, periodicamente, a umidade do material é monitorada, com a finalidade de avaliar a perda de água até que atinja o valor adequado para a conservação. O teste de umidade é conduzido pelo método de estufa (105 ± 3 ºC /24 horas).

d. Secagem

As sementes são desidratadas em câmara à temperatura de 22 °C e 15% de umidade relativa, onde a perda de umidade pela semente é lenta e gradativa, evitando-se danos de desidratação e, consequentemente, comprometimento da qualidade fisiológica do material. Na câmara de secagem, as sementes são embaladas em envelopes de papel tipo Kraft. A velocidade de secagem da semente está condicionada ao tempo de exposição ao ambiente de secagem, às condições de secagem (temperatura e umidade relativa do ar) e às características intrínsecas da semente, tais

como teor de água inicial, composição química, tamanho e área superficial (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Uma vez atingida a umidade adequada para a conservação, as sementes são acondicionadas em envelopes aluminizados e trifoliolados e fechadas hermeticamente, para evitar a reabsorção de umidade e armazenadas em câmaras frias (-20 ºC).

e. Teste de germinação

O teste de germinação inicial tem por objetivo avaliar a qualidade fisiológica da amostra. Durante o armazenamento, testes de germinação são conduzidos para avaliar a integridade, bem como a manutenção da viabilidade da amostra. O teste de germinação segue a metodologia de análise de sementes descrita nas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992), que especificam as condições adequadas de germinação (temperatura, substrato, tratamentos pré-germinativos, fotoperíodo) por espécie. Para as espécies não incluídas nas Regras de Análise e consequentemente sem regras normatizadas para germinação, são realizadas pesquisas visando identificar substratos e regimes de temperaturas adequados para a máxima expressão da viabilidade das sementes, assim como a sua tolerância à dessecação.

A interação entre o poder germinativo inicial da semente e o número de sementes do acesso indicará se o acesso poderá ser incorporado de imediato à Colbase. Acessos que não apresentam poder germinativo acima de 75% e (ou) que não possuem quantidade suficiente de semente, não são incorporados ao sistema básico de conservação em longo prazo. Nesse caso, expede-se ao curador do produto um relatório sobre as condições dos acessos, para que o curador providencie junto ao BAG a regeneração e (ou) multiplicação do material. Esses acessos permanecem armazenados, provisoriamente, a -20 ºC, até que sejam enviados ao BAG.

f. Teste de sanidade

Informações sobre a qualidade sanitária inicial dos acessos são de extrema importância. Isso porque o germoplasma semente constitui-se em uma via de transmissão e sobrevivência de patógenos. Os patógenos

associados ao germoplasma levam a perda expressiva do material durante seu armazenamento e não se recomenda tratar germoplasma semente com produtos químicos antes do armazenamento, devido aos riscos de alterações genéticas (VERONA et al.,1996; ROTA; PIEROBOM, 1997). A conservação de germoplasma sadio é fundamental para salvaguardar as coleções e assegurar a distribuição e uso de germoplasma sadio.

O teste de sanidade é feito por meio de amostragem aleatória, correspondendo a 10% dos acessos de cada produto recebido. Para detecção fúngica, utiliza-se o método de incubação em papel de filtro à temperatura de 25 °C, durante sete dias, sob regime de luz ultravioleta alternada. Os resultados da análise de sanidade não interferem no destino do acesso a ser conservado. Entretanto, ocorrendo a detecção de fungos patogênicos que possam oferecer algum risco às plantas oriundas do germoplasma, é feita prescrição para controle efetivo no manejo da coleção, quando o material é enviado para regeneração visando à obtenção de germoplasma sadio.

As condições para a manutenção da viabilidade de germoplasma -semente mantêm igualmente a viabilidade de patógenos a ele associados. Na análise sanitária de aproximadamente 14 mil acessos armazenados na Colbase, registrados no Sistema Brasileiro de Informações de Recursos Genéticos – Sibrargen, de diferentes espécies procedentes dos BAGs, foi detectada a presença de fungos patogênicos e de armazenamento. Esses resultados sugerem que os BAGs podem servir como centro de diversidade para os patógenos. Por isso, tem sido recomendado, aos BAGs, o uso e a produção de sementes sadias, para evitar a perpetuação e disseminação de patógenos de plantas e salvaguardar o germoplasma a ser conservado.

g. Contagem das sementes

O número de sementes da amostra principal do acesso é contado utilizando-se o contador eletrônico ou manualmente, quando as sementes são grandes. Para fins de armazenamento em longo prazo, a quantidade

de sementes recomendada é de 1.500 a 2.000 sementes. Amostras com menores quantidades de sementes podem ser armazenadas provisoriamente até serem enviadas para multiplicação no respectivo BAG.

h. Embalagem e armazenamento

As amostras são acondicionadas em embalagens do tipo envelope aluminizado trifoliolado (uma camada de polietileno, uma de alumínio e uma de polietileno) e impermeável. A embalagem é lacrada em seladora elétrica, para que não haja troca de ar interior/exterior, mantendo, assim, a umidade das sementes estável.

Os envelopes são identificados, interna e externamente, com o sistema de código de barras e armazenados em câmaras frias (-20 ºC). A localização das amostras nas câmaras frias é feita por estante, nível da prateleira e sacos plásticos.

i. Monitoração do germoplasma

A deterioração de sementes durante o armazenamento é um processo natural e decorrente de fatores genéticos e das condições e tempo de armazenamento, podendo resultar em perda parcial ou total da viabilidade das sementes. O controle da manutenção da viabilidade de sementes armazenadas é feito por meio de testes de germinação, em intervalos variáveis, de acordo com o poder germinativo inicial do acesso.

Para os acessos que entraram no sistema de conservação com viabilidade inicial superior a 85%, a monitoração é realizada a cada 10 anos. Os acessos com viabilidade inicial inferior a 85% são monitorados a cada 5 anos. Os resultados da monitoração indicarão se o acesso deverá ou não ser regenerado, em função da porcentagem de perda qualitativa do material. Dessa forma, quando a viabilidade das sementes de um acesso armazenado for reduzida para valores iguais ou inferior a 85% do percentual de germinação inicial, o mesmo deverá ser enviado para regeneração e multiplicação. A amostra é cultivada em telado, casa de vegetação ou campo, e novas sementes são enviadas para Coleção de Base.

Os resultados de monitoração da qualidade fisiológica das sementes têm mostrado que as condições de armazenamento em longo prazo da Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia têm sido adequadas e satisfatórias para manutenção da viabilidade dos acesos de várias espécies por longos períodos.

Silva et al. (2007) apresentaram os resultados da monitoração de alguns acessos de arroz (*Oryza sativa*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), milho (*Zea mays*) e feijão-caupi (*Vignia unguiculata*), armazenados por períodos de 11 a 23 anos (Tabela 2), destacando que, para alguns acessos, a média do poder germinativo observada durante a monitoração foi superior àquela do poder de germinação inicial.

Tabela 2. Monitoração da viabilidade de sementes dos acessos de *Oryza sativa, Phaseolus vulgaris, Zea mays* e *Vignia unguiculata* armazenados por diferentes períodos na Coleção de Base. Brasília, DF, Brasil, 2008.

Espécie	Número de acesso	Período de armazenamento (anos)	Porcentagem média de germinação	
			Inicial	Final
Oryza sativa L.	41	23	89,93	94,78
	816	20	88,58	94,64
	422	17	84,06	92,65
	386	14	84,24	93,77
Phaseolus vulgaris L.	109	13	98,07	99,08
	53	12	94,75	94,86
	116	11	92,90	96,23
	557	11	95,64	96,52
Zea mays L.	38	23	83,23	90,37
	142	22	84,50	93,00
	131	15	97,72	98,60
	159	12	98,19	98,30
Vignia unguiculata L.	66	21	86,30	90,81
	553	16	93,13	97,62
	222	15	88,27	91,76
	284	11	96,63	97,69

Wetzel et al. (2002) verificaram que, após 24 anos de armazenamento em câmara fria, as sementes de 40 genótipos de ervilha apresentaram percentagens médias de germinação e vigor de 88,03% e 84,60%, respectivamente, e que um segundo lote, de sementes contendo 415 acessos, apresentou percentagem média de germinação de 99,13% e percentagem de vigor médio de 98,80%. No primeiro lote, 34% dos acessos apresentaram 100% de germinação e, no segundo, 65,54% dos acessos mostraram valor máximo de 100% de germinação e de vigor, sugerindo que as condições de armazenamento estão sendo satisfatórias para a conservação e preservação desse material genético.

Wetzel et al. (2005) citam que, após 10 anos de armazenamento de acessos de Vigna em câmaras frias (-20 °C), houve um aumento de aproximadamente 4% na viabilidade das sementes quando comparada à viabilidade inicial média (92%). Silva et al. (2005), monitorando a viabilidade das sementes de 264 acessos de abóbora e 110 de moranga armazenadas em câmara fria (-20 °C), por períodos de 10 a 14 anos, também, observaram aumento do poder de germinação variando de 1,91% até 45,65%, com exceção de um acesso de moranga que mostrou redução de 1,09% (Tabela 3). Provavelmente, o aumento de viabilidade se deve a diferenças das metodologias utilizadas nas avaliações iniciais e finais e muitas sementes poderiam estar dormentes por volta da avaliação inicial.

Wetzel et al. (2002) observaram que, para 394 acessos de soja (*Glycine max*), após 22 anos de armazenamento na Colbase, não houve variações das porcentagens de germinação de 83% dos acessos, armazenados com poder de germinação inicial superior a 80% (Figura 2).

Tabela 3. Monitoração da viabilidade de acessos de abóbora e moranga conservados em longo prazo na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, DF, Brasil, 2008.

Produto	Período de armazenamento (anos)	Nº de acesso	Poder de germinação (%)		Acréscimo na viabilidade (%)
			Inicial	Atual	
Abóbora	10	66	67,28	98,00	45,65
	12	44	78,69	98,71	25,44
	13	41	96,45	98,30	1,91
	13	3	96,00	99,00	3,12
	14	110	90,37	96,18	6,42
Moranga	12	34	72,69	87,79	20,77
	13	25	95,18	96,60	1,49
	13	1	96,00	95,00	-1,09
	13	5	88,40	99,20	12,21
	14	44	91,77	96,77	5,44

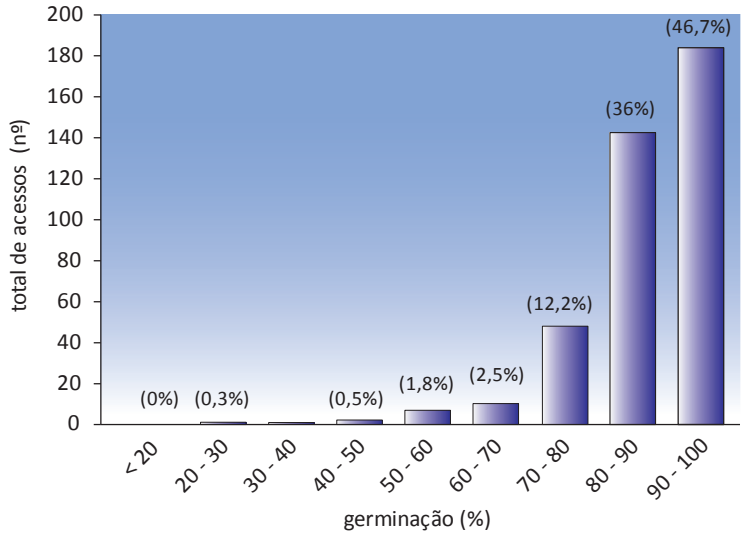


Figura 2. Distribuição de 394 acessos de *Glycine max* por intervalo de classe de germinação, após 20 anos de armazenamento na Coleção de Base.

Considerações Finais

Os acessos de germoplasma-semente de várias espécies ortodoxas armazenadas em longo prazo na Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia encontram-se conservados adequadamente, estando disponíveis para intercâmbio, atendendo a legislação vigente no país.

As leis de muitos países têm restringido significativamente o intercâmbio de material genético no mundo inteiro. Com isso, nos próximos anos, espera-se que o incremento de acessos à Colbase seja bastante discreto.

Em relação à América Latina, o Brasil possui o maior número de acessos conservados em bancos de germoplasma (KNUDSEN, 2000) e a melhor estrutura para a conservação em longo prazo com uma capacidade para armazenar 250 mil acessos. No panorama mundial, o Brasil ocupa a sétima posição em relação ao número de acessos conservados em longo prazo. Essa é uma posição relativamente confortável que não deve ser acomodada. Deve-se atentar para o fato de que, em quase sua totalidade, o acervo de recursos genéticos armazenados na Colbase é constituído por espécies exóticas.

A elaboração de coleções nucleares associadas às atividades de caracterização morfológica, agronômica e molecular poderão oferecer, nos próximos anos, informações satisfatórias para ampliar o uso do germoplasma armazenado em longo prazo. Também, os avanços na área de engenharia genética permitirão ampliar o potencial de uso dessa coleção.

O custo de armazenamento depende do número de acessos conservados, do tamanho das sementes e do tipo de reprodução da espécie. O custo de conservação anual por acesso de algumas leguminosas (feijão, lentilha, grão de bico, ervilha, amendoim e forrageiras) e cereais (trigo, arroz, sorgo, milheto e forrageiras) são inferiores a US$ 1,5, enquanto o custo de conservação da mandioca é de US$ 11,98. Entre os componentes

do custo de conservação de germoplasma em longo prazo, a atividade de regeneração de acessos representa aproximadamente 50% do total dos custos variáveis, seguida da estocagem (20% a 25%), distribuição (10% a 15%). O custo de novas introduções, multiplicação e teste de viabilidade varia de 4% a 7% (KOO et al., 2002).

A Coleção de Base de Germoplasma - semente da Embrapa constitui-se num mecanismo tecnológico importante, uma vez que reúne e preserva um grande número de genes para uso em programas de melhoramento e processos biotecnológicos, os quais, estrategicamente, asseguram a alimentação e a agricultura nacional.

Referências

BASS, A. S. Controlled atmosphere and seed storage. **Seed Science & Technology**, Zurick, v. 1, n. 2, p. 463-492, 1973.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Coordenação de Laboratórios Vegetais. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365 p.

CAJUEIRO, E. V. de M.; GOEDERT, C. O.; WETZEL, M. M. V. da S. Sistemas de información sobre recursos fitogenéticos en uso en Brasil. In: REUNIÓN TÉCNICA PARA LATINOAMÉRICA Y EL CARIBE DEL SISTEMA MUNDIAL DE LA FAO DE INFORMACIÓN Y ALERTA PARA LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS, 2001, Turrialba, Costa Rica. **Memoria**... Turrialba: CATIE, 2002. p. 36-57. (CATIE. Serie técnica. Reuniones técnicas, n. 8). Editado por: Carlos Astorga Domian.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H.; SOETISNA, U. Seed storage behavior in Elaeis guinaensis. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, p. 99-104, 1991.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. **Journal of Experimental of Botany**, Oxford, UK, v. 41, p. 1167-1174, 1990.

EMBRAPA. Centro Nacional de Recursos Genéticos. **Relatório de atividades técnicas do CENARGEN 1990**. Brasília, DF, 1993. 86 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Recursos Genéticos. **Relatório técnico anual do Centro Nacional de Recursos Genéticos 1976**. Brasília, DF, 1977. 38 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Recursos Genéticos. **Relatório técnico anual do Centro Nacional de Recursos Genéticos 1981**. Brasília, DF, 1984. 65 p.

FAIAD, M. G. R.; SALOMÃO, A. N.; FERREIRA, F. R.; GONDIM, M. T. P.; WETZEL, M. M. V. S.; MENDES, R. A.; GOES, M. de; MIRANDA, A. R. de. **Manual de procedimentos para conservação de germoplasma semente a longo prazo na Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 21 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 30).

FAO. **The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture**. Rome, 1998. 510 p.

FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. (Ed.). **Genetic resources in plants:** exploration and conservation. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 538 p.

FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. (Ed). **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge: IBP Synthesis CUP, 1975. v. 2, 492 p.

HAWKES, J. G. Genetic Conservation: A world problem In: HUGHES, J. G. (Ed.). **Conservation of plant genetic resources.** Birmingam: University of Aston, 1978. p. 1-7.

HEYDECKER, W. **Seed Ecology.** London: Butterworths, 1973. 578 p.

IBPGR. **Collection of crop germplasm:** the first ten years 1974 - 1984. Rome, 1984. 119 p.

IUCN. Plants in danger. **What do we know?** Gland, 1996.

JUSTICE, l. O.; BASS, l. N. **Principles and practices of seed storage**. Washington: USDA, 1978. 289 p. (USDA. Handbook, 506).

KNUDSEN, H. (Ed.). **Directorio de colecciones de germoplasma en América Latina y el Caribe**. Roma: IPGRI, 2000. 369 p.

KOO, B.; PARDEY, P. G.; WRIGTH, B. D. **Endowing future harvests**: the long-term cost of conserving genetic resources at the CCIAR Centers. Rome: IPGRI, 2002. 30 p.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 499-514, 1973.

ROOS, E. E. Long-term seed storage. **Plant Breeding Reviews**, Westport, US, v. 7, p. 129-158, 1989.

ROTA, G. R. M.; PIEROBOM, C. R. Detecção de *Colletotrichum gloeosporioides*

f. sp. cepae e outros fungos em sementes de cebola (Allium *cepa* L.) em teste de sanidade, com incubação sob diferentes temperaturas. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 7, p. 149, 1997. Resumos.

SALOMÃO, A. N. Tropical seed species' responses to liquid nitrogen exposure. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 14, p. 133-138, 2002.

SALOMÃO, A. N.; EIRA, M. T. S. da; CUNHA, R. da; SANTOS, I. R. I.; MUNDIM, R. C.; REIS, R. B dos. **Padrões de germinação de sementes de espécies autóctones**: madeireiras, alimentícias, medicinais e ornamentais. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1997. 12 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado técnico, 23).

SILVA, D. B.; WETZEL, M. M. V. S.; FERREIRA, M. A. J. F.; LOPES, J. F.; BUSTAMANTE, P. G. Conservação de cucúrbita spp. a longo prazo no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 1., 2005, Pelotas. **Resumos e palestras**... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. p. 253-257. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 125).

SILVA, D. B.; WETZEL, M. M. V. S; SALOMÃO, A. S.; FAIAD, M. G. Conservação de germoplasma semente em longo prazo. In: NASS, L. L. **Recursos Genéticos Vegetais.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p.441-471.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME - UNEP. **Conservation on biological diversity**. Rio de Janeiro, 1992. 224 p. (Na. 92-7807)

VALOIS, A. C.; SALOMÃO, N. S.; ALLEN, A. C. **Glossário de recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1996. 62 p.

VERONA, L. A. F.; PACHECO, A. C.; ZANININETO, J. A.; GANDIN, C. L.; THOMAZELLI, L. F. Qualidade e produtividade de sementes de cebola na região Oeste Catarinense -safra 1994/1995. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 9, p. 29-32, 1996.

WETZEL, M. M. V. S.; BUSTAMANTE, P. G. (Org.). **Diretório de recursos genéticos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 140 p.

WETZEL, M. M. V. S.; FAIAD, M. R.; SILVA, D. B.; ROCHA, L. M. T. Brazilian Soybean Base Collection – Monitoring. In: CHINA & INTERNATIONAL SOYBEAN CONFERENCE & EXHIBITION, 2002, Beijing, China. **Proceedings**... Beijing, China, 2002. p. 401-403.

WETZEL, M. M. V. S.; FREIRE, M. S.; FAIAD, M. G. R.; FREIRE, A. de B. Recursos Genéticos: Coleção Ativa e de Base. In: FREIRE FILHOE, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-cupi:** avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 159-190.

6

A Genética Molecular Aplicada aos Programas de Conservação e Uso de Recursos Genéticos Vegetais

Fábio Gelape Faleiro

Introdução

Nos últimos anos, houve um aumento significativo da aplicação de metodologias da genética molecular para resolver problemas e aumentar a eficiência dos programas de conservação e uso dos recursos genéticos vegetais. Uma grande variedade de metodologias para detectar e analisar a variabilidade genética no âmbito molecular está disponível e oferece ferramentas adicionais e complementares a outros estudos envolvidos no manejo de bancos de germoplasma.

Com o advento das tecnologias modernas de genética e biologia molecular, surgiram, por exemplo, diversos tipos de marcadores moleculares que detectam o polimorfismo genético diretamente no DNA. O princípio da utilização dos marcadores moleculares é baseado no dogma central da biologia molecular e na pressuposição de que diferenças genéticas no DNA significam, na maioria das vezes, diferenças fenotípicas. Entre as vantagens dos marcadores, podemos citar a obtenção de um número praticamente ilimitado de polimorfismos genéticos; a identificação direta

do genótipo sem influência do ambiente; a possibilidade de detecção em qualquer estádio do desenvolvimento da planta ou a partir de cultura de células ou tecidos; e a possibilidade de gerar maior quantidade de informação genética por loco no caso de marcadores codominantes.

As diferentes metodologias da genética molecular têm permitido estudos de evolução, de diversidade genética inter e intraespecífica, de identidade, origem genética e identificação de novos variantes, gerando informações importantes para subsidiar diferentes ações de pesquisa desde a coleta até a utilização dos recursos genéticos em programas de melhoramento. Elas são aplicadas na conservação e no melhoramento genético vegetal e animal.

Neste capítulo, será feita uma breve descrição das principais técnicas da genética molecular, especialmente os diferentes tipos de marcadores moleculares e suas principais aplicações relacionadas ao aumento da eficiência dos programas de conservação e uso dos recursos genéticos vegetais.

Principais Técnicas da Genética Molecular

Nos últimos anos, com os avanços na área da genética e biologia molecular, principalmente com o advento da tecnologia do DNA recombinante, da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do sequenciamento automático do DNA, foram desenvolvidas poderosas técnicas para o desenvolvimento de marcadores genéticos úteis na identificação, caracterização e avaliação dos recursos genéticos vegetais. O elevado número de artigos científicos que utilizam esses marcadores no estudo de várias espécies e com as mais variadas aplicações evidencia o impacto dessa tecnologia nos programas de conservação e uso dos recursos genéticos (AYAD et al., 1997).

Logicamente, existem vários questionamentos sobre o uso apropriado das várias tecnologias disponíveis, incluindo questões metodológicas de obtenção e análise dos marcadores genéticos, principalmente quando

são analisados grande número de acessos; questões financeiras relacionadas à infraestrutura e material de custeio necessário às metodologias; e questões relacionadas aos recursos humanos com treinamento e experiência. Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, as questões financeiras têm sido as mais importantes.

Para a obtenção de marcadores genéticos moleculares, é necessária uma infraestrutura para realizar as diferentes fases da metodologia, a qual varia de acordo com o tipo de marcador: de modo geral, são necessários equipamentos para a extração de DNA, amplificação via reação em cadeia da polimerase (PCR), separação por eletroforese, fotodocumentação e análise estatística dos marcadores gerados (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995). A infraestrutura também depende do número de acessos a serem analisados, sendo necessários equipamentos mais robustos para análises de grande número de acessos. No início do desenvolvimento das diferentes tecnologias, tanto os equipamentos quanto o material de custeio eram muito caros, contudo, com a concorrência entre as diferentes empresas que fornecem tais materiais e a otimização das metodologias com um menor gasto de material, o preço das análises vem reduzindo a cada ano.

Existe atualmente um grande número de tecnologias da genética molecular que podem ser utilizadas para fornecer informações úteis aos programas de conservação e uso de recursos genéticos. Cada tecnologia apresenta vantagens e desvantagens e a utilização de uma ou outra vai depender, entre outros fatores, do objetivo do estudo, da infraestrutura disponível, dos recursos financeiros para o investimento, da disponibilidade de recursos humanos com treinamento apropriado e do nível de conhecimento da genética molecular da espécie a ser estudada (FALEIRO, 2007). A seguir, são conceituadas as principais tecnologias disponíveis para a obtenção de marcadores genéticos moleculares.

Isoenzimas

Grupo de múltiplas formas moleculares de uma enzima, resultante de variações alélicas dos genes codificadores (ALFENAS, 1998).

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

RAPDs são fragmentos de DNA amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando-se primers curtos (geralmente dez nucleotídeos) de sequência aleatória (WILLIAMS, 1990). Outra terminologia usada para esses marcadores é a Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction (AP-PCR) (WELSH; MCCLELLAND, 1990). Primers específicos (15 pb a 30 pb) podem ser desenhados a partir do sequenciamento de um determinado marcador RAPD ligado a uma característica de interesse do geneticista, de modo a produzir marcadores Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) (PARAN; MICHELMORE, 1993; CORRÊA et al., 2000).

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

RFLPs são fragmentos de DNA obtidos com o uso de enzimas de restrição, separados por eletroforese e visualizados por meio de hibridizações com sondas de sequências homólogas marcadas com radioatividade ou fluorescência (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

Microssatélites

Microssatélites são unidades muito curtas (2 pb a 5 pb) repetidas em tandem. Os marcadores microssatélites também são conhecidos como Simple Sequence Repeats (SSR). A obtenção dos marcadores envolve a amplificação dos microssatélites via PCR, utilizando-se primers específicos (geralmente com 20 pb a 25 pb) para as regiões do DNA que flanqueiam os microssatélites (LITT; LUTY, 1989; MORGANTE; OLIVIERI, 1993).

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

Os AFLPs são fragmentos de DNA (80 pb a 500 pb) obtidos com a digestão do DNA com enzimas de restrição, seguida da ligação de oligonucleotídeos adaptadores e amplificação seletiva dos fragmentos

via PCR. Esse tipo de marcador combina os princípios dos marcadores RAPD e RFLP (VOS et al., 1995).

Minissatélites

Minissatélites são unidades de 10 pb a 100 pb repetidas em tandem, flanqueadas por sítios conservados de endonucleases de restrição. Também são conhecidos por Variable Number of Tandem Repeats (VNTRs) (JEFFREYS et al. 1985).

Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS)

CAPS são fragmentos de DNA amplificados via PCR, utilizando-se primers específicos (20 pb a 30 pb), seguido da digestão com endonucleases de restrição (WILLIAMS et al., 1991). Esse tipo de marcador genético é também conhecido como PCR-RFLP (HELA et al., 2004).

Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP)

SSCPs são fragmentos de DNA de 200 pb a 800 pb amplificados via PCR, utilizando-se primers específicos, os quais são desnaturados para fita simples e separados por eletroforese (HAYASHI, 1992). Uma variação dessa técnica é a chamada Denaturing Gradient Gel Electroforesis (DGGE), a qual utiliza géis desnaturantes usando concentrações de formamida e ureia.

Inter Simple Sequence Repeats (ISSR)

ISSRs são fragmentos de DNA de 100 pb a 3.000 pb amplificados via PCR, utilizando-se um único primer (16 pb a 20 pb) construído a partir de sequência de microssatélites (GODWIN et al., 1997).

PCR-sequencing

Esse tipo de marcador genético molecular envolve a determinação da sequência de nucleotídeos de um fragmento de DNA amplificado via

PCR, utilizando-se primers específicos (15 pb a 30 pb) para uma determinada região do genoma em estudo. Para a determinação da sequência de nucleotídeos, existem, hoje, os sequenciadores automáticos muito utilizados nos projetos genoma.

Marcadores baseados em retrotransposons

Os retrotransposons compreendem a classe mais comum de transposons e ocorrem em grande número de cópias em genomas de plantas. Os retrotransposons são frequentemente observados em regiões adjacentes a genes de plantas já conhecidos e consistem em longas sequências repetidas com região terminal altamente conservada. Essa região conservada tem sido utilizada para o anelamento de primers específicos e desenvolvimento dos marcadores baseados em retrotransposons. Várias técnicas têm sido desenvolvidas, entre elas: *Sequence-Specific Amplified Polymorphism* (S-SAP) (WAUGH et al., 1997), *Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism* (IRAP) (KALENDAR et al., 1999), *Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism* (REMAP) (KALENDAR et al., 1999) e *Retrotransposon Based Insertional Polymorphism* (RBIP) (FLAVELL et al., 1998).

Marcadores baseados em genômica funcional

A disponibilidade de sequências gênicas tem aumentado muito nos últimos anos com o desenvolvimento dos projetos genoma. Essas sequências têm estimulado o desenvolvimento de marcadores moleculares direcionados aos genes de interesse. Entre os marcadores baseados em genômica funcional, pode-se citar os marcadores baseados em sequências conservadas de genes de resistência como a Nucleotide Binding Site (NBS) e a Leucine Rich Repeat (LRR) (CHEN et al., 1998; SICARD et al., 1999), marcadores baseados em polimorfismos de nucleotídeos únicos conhecidos como Single Nucleotide Polimorphism (SNP) (CHO et al., 1999) e aqueles baseados na tecnologia do chip de DNA

(RAMSAY, 1998), os quais são baseados na hibridização entre sondas e sequências complementares de microarrays (microarranjos) de DNA.

Na Figura 1, ilustram-se alguns dos padrões de polimorfismos de alguns marcadores genéticos citados neste capítulo.

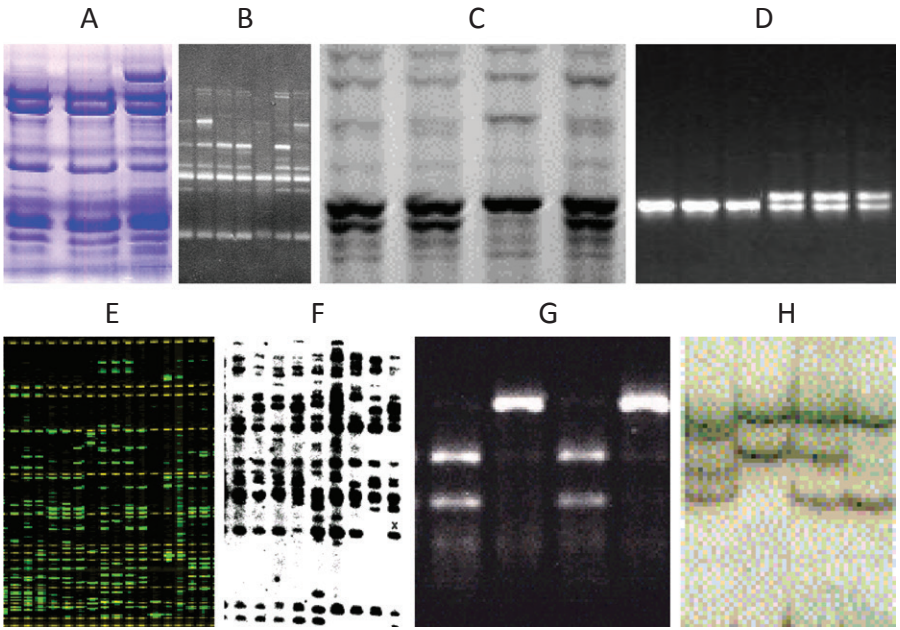


Figura 3. Polimorfismos dos marcadores genéticos moleculares: isoenzimas (A); RAPD (B); RFLP (C); microssatélites (D); AFLP (E); minissatélites (F); CAPS (G); e SSCP (H).

Na literatura, são citados outros tipos de marcadores genéticos como *DNA Amplification Fingerprinting* (DAF), *Multiple Arbitrary Amplicon Profiling* (MAAP), *Simple Sequence Length Polymorphisms* (SSLP), *Sequence Tagged Microsatellites* (STMS), *Directed Amplification of Minisatellite-region DNA* (DAMD), *Single Primer Amplification Reaction* (SPAR), *Thermal Gradient Gel Electrophoresis* (TGGE), *Selective Fragment Length Amplification* (SFLA), *Selective Restriction Fragment Amplification* (SRFA), cujos princípios são idênticos ou muito semelhantes aos marcadores genético moleculares descritos neste capítulo.

Princípio da Análise dos Marcadores Genético Moleculares

Embora exista um grande número de marcadores genéticos moleculares, o princípio da análise de tais marcadores é o mesmo: marcadores comuns aos acessos significam semelhança genética e marcadores não comuns significam diferenças genéticas. Os dados sobre semelhança e diferença genética entre acessos permitem gerar uma grande quantidade de informações sobre a diversidade genética e relacionamentos filogenéticos dos acessos de determinado banco de germoplasma (FALEIRO, 2011a). Cada tipo de tecnologia da genética molecular descrito neste capítulo permite a obtenção de grande número de marcadores genéticos moleculares, os quais representam uma amostra considerável do genoma de cada acesso, sem influência do ambiente. Na maioria das análises realizadas, cada marcador genético molecular representa um caráter fenotípico distinto e independente dos demais (TANKSLEY, 1983; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

O primeiro passo para a análise dos marcadores genéticos moleculares é a codificação dos fragmentos moleculares em dados binários (no caso de marcadores dominantes) ou dados de coincidência alélica (no caso de marcadores codominantes). Os dados para marcadores dominantes normalmente são codificados como 1 (presença do marcador) e 0 (ausência do marcador). Os dados para marcadores codominantes normalmente são codificados como 0 (ausência de alelos comuns no loco), ½ (um alelo comum no loco) e 1 (os dois alelos comuns no loco).

O segundo passo é utilizar os dados codificados para a estimativa de índices de similaridade ou de distância genética entre cada par de acessos. Existem vários índices descritos na literatura, como o índice de similaridade de Nei e Li (1979), Sneath e Sokal (1973), Gower (1971), também citado como coeficiente de similaridade de Jaccard, entre outros. Normalmente, os coeficientes de correlação entre os diferentes índices

são muito altos (CORRÊA et al., 1999), embora existam algumas diferenças importantes entre eles (DIAS, 1998). No caso de marcadores baseados na sequência de nucleotídeos de um determinado fragmento de DNA, os índices de similaridade ou de distância são calculados com base na homologia de sequência.

Com base nos índices, estabelece-se uma matriz de similaridade ou de distâncias entre os acessos, a qual vai servir de base para as análises de agrupamento e de dispersão dos acessos. As análises de agrupamento normalmente são baseadas em métodos hierárquicos, os quais podem utilizar diferentes critérios de agrupamento: vizinho mais próximo (*single linkage*), vizinho mais distante (*complete linkage*) e baseado na média das distâncias (*unweighted pair-group method using arithmetic average*). Dias (1998) descreve a aplicação de cada um desses critérios discutindo sobre as vantagens e desvantagens de cada um. No caso da análise de dispersão dos acessos, o método mais utilizado é aquele baseado em escalas multidimensionais por meio das coordenadas principais. Esse método tem sido denominado análise de coordenadas principais (*PCDA – principal coordinates analysis*) (GOWER, 1966) e também é discutido por Dias (1998).

Na Figura 2, ilustram-se as etapas e os procedimentos mais utilizados para as análises de marcadores genéticos moleculares. A realização desses procedimentos seria praticamente impossível sem a ajuda computacional, principalmente quando vários acessos são analisados simultaneamente. Existem vários softwares disponíveis para a análise de marcadores moleculares, entre eles o Genes (CRUZ, 1997), o *Statistica* (STATSOFT, 1999), o NTSYS (ROHLF, 1992), o GQMOL (CRUZ; SCHUSTER, 2000), o SPSS (NORUSIS, 1993) e o SAS (SAS, 1989). As diferenças entre os vários softwares disponíveis estão relacionadas aos procedimentos e abrangência das análises, aos formatos dos arquivos utilizados como input, à robustez e linguagem de programação e à qualidade gráfica dos resultados ou output, bem como à facilidade ou não da utilização dos procedimentos de análises disponíveis na interface

com o usuário. Embora a utilização de cada software seja considerada difícil para os iniciantes, a maioria dos manuais ou sistemas de ajuda é didática e contém exemplos de cada procedimento de análise, facilitando, dessa forma, sua utilização.

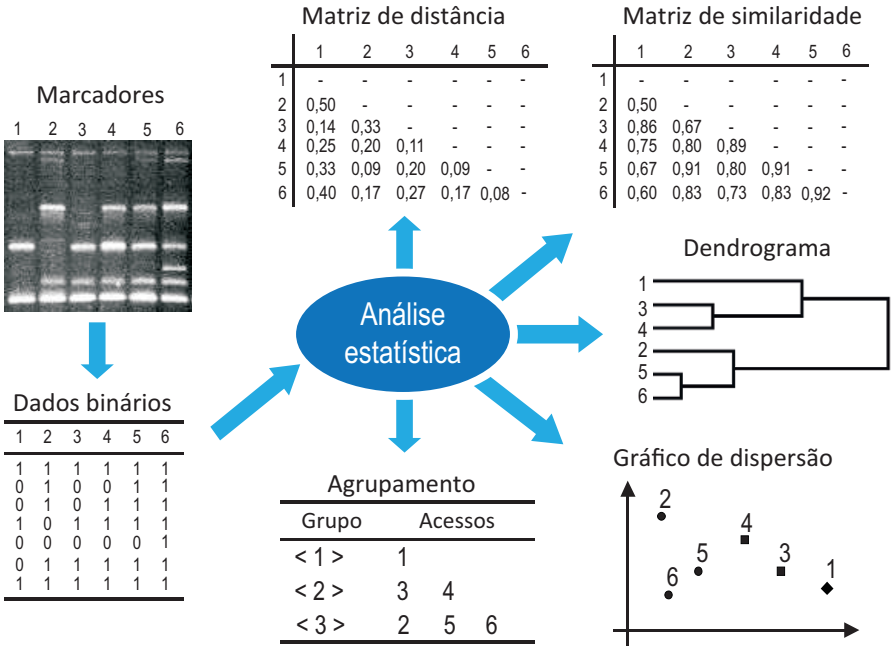


Figura 2. Etapas e os procedimentos mais utilizados para as análises de marcadores genéticos moleculares.

Principais Aplicações dos Marcadores Genético Moleculares nos Programas de Conservação e Uso de Recursos Genéticos

Os marcadores genético moleculares permitem gerar uma grande quantidade de informações sobre a identidade genética, a diversidade, a frequência gênica e os relacionamentos filogenéticos dos recursos genéticos de um determinado germoplasma. Essas informações são extre-

mamente úteis nas diferentes estratégias de conservação dos recursos genéticos como a ex situ, in situ e on farm. Em cada estratégia, os marcadores moleculares podem auxiliar nas diferentes etapas, como a coleta, manutenção, caracterização, manejo, ampliação e uso dos recursos genéticos (FALEIRO, 2011b).

As informações moleculares podem complementar as informações ecológicas, morfológicas e agronômicas dos recursos genéticos, contribuindo para aumentar a eficiência dos processos de coleta; direcionar o enriquecimento da base genética; formar e validar coleções nucleares e de trabalho; analisar a diversidade e a pureza genética; identificar acessos duplicados e redundantes; auxiliar trabalhos de classificação botânica e filogenia; e subsidiar a seleção de genitores, o planejamento dos cruzamentos e a seleção de genótipos com características desejadas em programas de melhoramento genético.

A seguir, são discutidas e exemplificadas as principais aplicações dos marcadores genético moleculares nos programas de conservação e uso dos recursos genéticos.

Análise da distribuição geográfica da variabilidade genética

O princípio dessa aplicação dos marcadores moleculares é confrontar a variabilidade genética molecular com a distribuição geográfica de vários acessos do germoplasma. Para a análise da distribuição geográfica, informações de latitude e longitude do local de coleta de cada acesso podem ser plotadas conjuntamente com mapas do Sistema de Informação Geográfica (SIG) (BRASIL, 1981) com o auxílio do programa ArcView GIS (www.esri.com) (COSTA, 2004). Dessa forma, descritores ecológicos do local de coleta de cada acesso, como o tipo de vegetação, tipo de solo, estado, município, bacia hidrográfica, pluviometria média, entre outros, podem ser obtidos.

Marcadores moleculares associados a sistemas de informação geográfica têm permitido os estudos da diversidade genética de acessos por

regiões, a identificação de regiões de maior ou menor diversidade (COSTA, 2004) e a recuperação informações importantes sobre as condições ambientais e biológicas dos locais de coleta de cada acesso (GREENE et al., 1999; GUARINO et al., 2002). Essas informações têm orientado a escolha de locais para conservação in situ, atividades de coleta para conservação ex situ e a busca de combinações gênicas adaptativas de interesse para programas de melhoramento genético (RICK et al., 1974; ZIMMERER; DOUCHES, 1991; HUANG et al., 1998; COSTA, 2004; FALEIRO et al., 2004a).

Desenvolvimento de estratégias de amostragem para coleta de recursos genéticos

A coleta de recursos genéticos é uma etapa básica e de extrema importância para os programas de conservação e uso de recursos genéticos; é realizada por expedições, com o objetivo de resgatar plantas ou populações de plantas de interesse. Normalmente em uma expedição, plantas são resgatadas por meio de sementes e (ou) mudas e normalmente procura-se amostrar eficientemente a diversidade genética existente.

Estudos da diversidade genética molecular de acessos ou populações em diferentes regiões podem fornecer informações importantes sobre estratégias de amostragem para realização de eficientes trabalhos de coleta (número de acessos, tamanho de cada população, análise quantitativa e qualitativa das regiões onde serão feitas as coletas, etc.) (LAMBOY et al., 1994; 1996; CESKA et al., 1997; ZORO BI et al., 1998; NEBAUER et al., 1999).

Análise de acessos duplicados ou redundantes

Em coleções base de trabalho e em bancos ativos de germoplasma, a presença de acessos duplicados ou redundantes, em conjunto com problemas de sinonímia, homonímia e erros de identificação, dificultam a

transferência de resultados e recomendações entre diferentes programas de melhoramento e aumentam o gasto de tempo e recursos para a conservação e avaliação do potencial genético dos acessos. Esses problemas são agravados em bancos de germoplasma de plantas perenes mantidas em condições de campo em áreas extensas com árduo trabalho relativo a tratos culturais e avaliação.

Marcadores moleculares têm sido utilizados para eliminar ou diminuir esses problemas, por exemplo, a análise de acessos duplicados ou redundantes em bancos ativos e coleções de trabalho de cacaueiro (FALEIRO et al., 2002); amendoim forrageiro (FALEIRO et al., 2003b); alface (WAYCOTT;FORT, 1994); cevada (HINTUM; VISSER, 1995); arroz (VIRK et al., 1995); couve-flor (HINTUM et al., 1996); uva (CERVERA et al., 1998); mandioca (CHAVARRIAGA-AGUIRRE et al., 1999); sorgo (DEAN et al., 1999); batata (MCGREGOR et al., 2002), entre outras culturas.

Análise da diversidade genética e frequência gênica populacional

Os diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis apresentam a capacidade de analisar de forma ampla genomas de interesse, sem influência do ambiente, e dessa forma gerar informações precisas sobre a diversidade genética e a frequência gênica populacional (OUBORG et al., 1999). Essas informações são extremamente úteis em todas as fases dos programas de conservação de recursos genéticos, passando pela coleta (DEL RIO et al., 1997a), conservação (WU et al., 1998), manutenção (SPAGNOLETTI-ZEULI et al., 1995; REEDY et al., 1995) e manejo (DEL RIO et al., 1997b) das coleções, além de facilitarem o uso do germoplasma em programas de melhoramento genético (ABDELNOOR et al., 1995; KARP et al., 1997; FALEIRO et al., 2004b).

As informações de diversidade genética e frequência gênica obtidas com o uso dos marcadores moleculares geram uma grande quantidade de

características adicionais, que podem ser combinadas com dados de pedigree e com características morfológicas, fisiológicas e agronômicas, fornecendo uma análise mais completa da coleção e de cada acesso (LIVINI et al., 1992; ABDELNOOR et al., 1995; VASCONCELOS et al., 1996; HUANG et al., 2002; FALEIRO et al., 2004b, FALEIRO et al. 2004c).

Estudos de diversidade genética de acessos subsidiando a escolha de genitores para programas de melhoramento

A escolha de genitores e o planejamento de cruzamentos em programas de melhoramento genético são etapas iniciais e fundamentais para o sucesso do programa (BORÉM, 1997). Para subsidiar essas etapas, é essencial uma caracterização genética refinada e completa da coleção e de cada acesso do germoplasma, a qual é obtida com base na avaliação acurada de características morfológicas, fisiológicas e agronômicas, além dos dados de pedigree.

Dados adicionais sobre a diversidade genética de potenciais genitores obtidos com base em marcadores moleculares podem auxiliar na escolha dos genitores e no planejamento dos cruzamentos visando à maximização da heterose e das combinações gênicas desejadas. Estudos de diversidade genética de linhagens de milho têm permitido a caracterização e o agrupamento das mesmas em grupos heteróticos distintos (LIVINI et al., 1992) e essas informações têm sido importantes na escolha de genitores para a obtenção de híbridos com elevada performace agronômica (GUIMARÃES; MOREIRA, 1999). Pires et al. (1999) propuseram uma estratégia de melhoramento genético do cacaueiro, utilizando a seleção recorrente envolvendo cruzamentos entre acessos silvestres e domesticados, sendo a escolha dos genitores a serem envolvidos nos cruzamentos auxiliada pelos dados de diversidade genética dos acessos estimados com base em marcadores moleculares. Dados de diversidade genética, principalmente de fontes de resistência à vassoura-de-bruxa, também têm auxiliado na escolha de genitores para o melhoramento genético do

cacaueiro visando à obtenção de variedades com resistência mais efetiva e duradoura, baseada na ampliação da base genética da resistência (FALEIRO et al., 2001, FALEIRO et al.2004d).

A escolha de genitores também pode ser baseada no agrupamento de potenciais genitores em grupos de similaridade. A escolha de menor número de genitores para representar determinado grupo de similaridade pode reduzir o número inicial de cruzamentos sem perdas significativas na diversidade genética, reduzindo os custos e viabilizando a execução do programa. Faleiro et al. (2004b) estudaram a diversidade genética de 35 potenciais genitores de *Stylosanthes guianensis*, estabeleceram 11 grupos de similaridade genética e selecionaram um genitor de cada grupo. Características agronômicas de produção de sementes e resistência a doenças foram utilizados como critério de seleção do acesso dentro do grupo de similaridade. Na Figura 3, ilustram-se os grupos de similaridade e os genitores selecionados por Faleiro et al. (2004b).

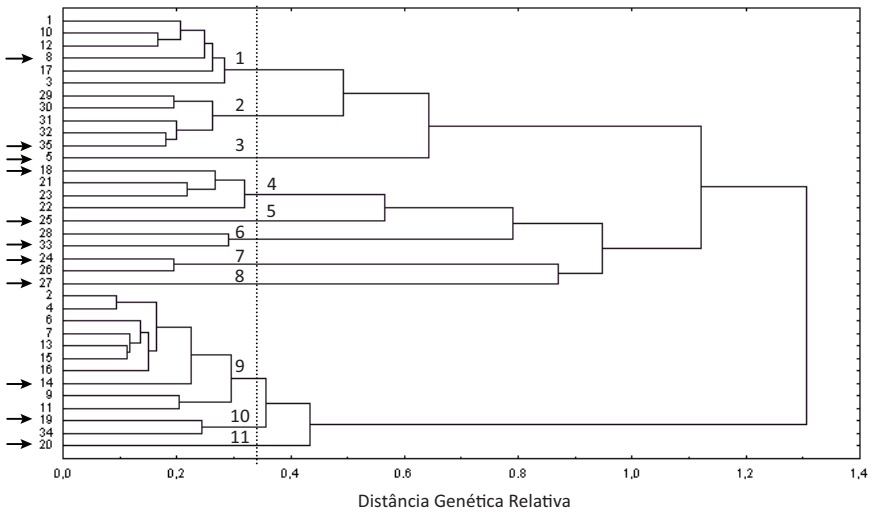


Figura 3. Análise de agrupamento de 35 acessos de *Stylosanthes guianensis* com base na matriz de distâncias genéticas geradas por 159 marcadores RAPD. As setas indicam os genitores selecionados com base na diversidade genética.

Fonte: Faleiro et al. (2004b).

Análise de pureza genética de sementes e contaminação de germoplasma

Acessos, principalmente de espécies autógamas, normalmente são representados em bancos de germoplasma por várias sementes. A análise da pureza genética dessas sementes pode ser feita utilizando marcadores moleculares (TANKSLEY; JONES, 1981; TREUREN; HINTUM 2001). O princípio dessa aplicação é estimar o parentesco genético entre as sementes com base na similaridade genética calculada a partir dos marcadores moleculares. É possível, por exemplo, quantificar taxas de polinização cruzada (FERREIRA et al., 2000) e verificar contaminações genéticas em amostras de sementes de um determinado acesso (STEINER et al., 1997; BORNER et al., 2000).

A estabilidade genética de uma determinada coleção de germoplasma também pode ser analisada com base em marcadores moleculares (ISABEL et al., 1993; WU et al., 1998; GOTO et al., 1998; BORNER et al., 2000). A manutenção da integridade e da estabilidade genética dos recursos genéticos é um dos principais objetivos dos programas de conservação. A perda da estabilidade genética é devido a mudanças nas frequências gênicas, as podem ocorrer devido à seleção, mutação, erosão genética e migração/contaminação. No caso de coleções de germoplasma, a erosão genética e os processos de contaminação são as principais causas da perda da estabilidade genética. Marcadores moleculares podem auxiliar o acompanhamento da estabilidade genética de acessos ao longo do tempo em diferentes condições de armazenamento ou após períodos de regeneração (REEDY et al., 1995; WU et al., 1998; PARZIES et al., 2000) e dessa forma subsidiar estratégias de manutenção e manejo dos acessos no banco de germoplasma.

Análises de *fingerprinting* e testes de paternidade

Cada acesso de um banco de germoplasma possui uma sequência de nucleotídeos que compõem o seu DNA. A detecção de diferenças

entre essas sequências pelos polimorfismos de fragmentos de DNA revela um padrão único, ou seja, uma impressão digital genética (*genetic fingerprinting*) que pode ser utilizada na identificação de indivíduos e também para testes de paternidade (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995). A impressão digital genética obtida com base em marcadores moleculares pode ser comparada a uma impressão digital utilizada nas carteiras de identidade, sendo tão ou mais eficiente para trabalhos de identificação. Adicionalmente, ao analisar a herança de cada marcador molecular ao longo das gerações, obtém-se uma poderosa ferramenta para a realização de testes de paternidade. Na Figura 4, ilustra-se um teste de paternidade de uma planta F1 de maracujazeiro realizado com base em marcadores moleculares RAPD.

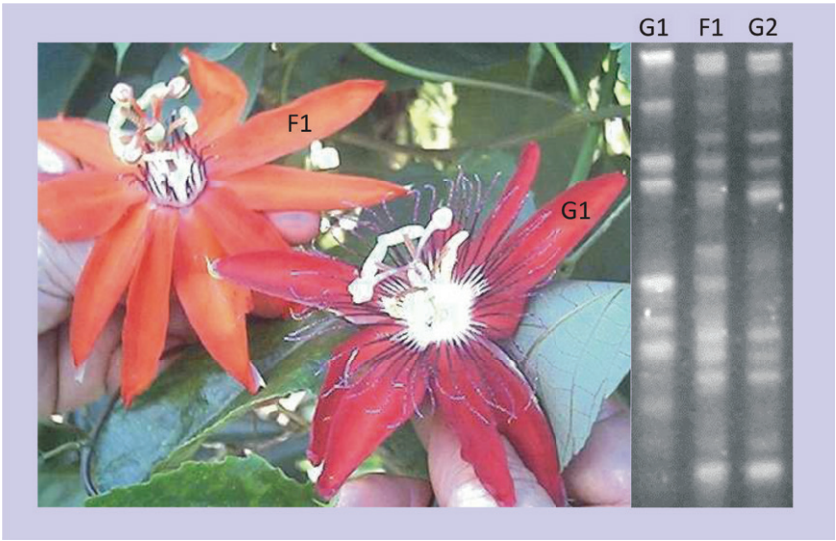


Foto: Fábio Gelape Faleiro

Figura 4. Teste de paternidade de uma planta F1 de maracujazeiro com base em marcadores moleculares.

A correta identificação de um acesso em um banco de germoplasma é essencial. A transferência de resultados e recomendações entre diferentes instituições de pesquisa muitas vezes é dificultada devido à identificação errada de acessos em diferentes coleções de germoplasma.

Erros de identificação de acessos em bancos de germoplasma podem ser causados por problemas de homonímia (o mesmo nome para diferentes acessos), de sinonímia (diferentes nomes para o mesmo acesso), administração e controle inadequado da coleção, problemas de etiquetagem, mistura de material propagativo (sementes, mudas, garfos para enxertia, estacas, etc.) utilizado na introdução e estabelecimento do banco de germoplasma, crescimento de ramos a partir de porta-enxerto em coleções mantidas no campo, entre outros.

Figueira et al. (1997) demonstraram, com base em marcadores moleculares, que a presença de erros na identificação de acessos de cacaueiro é comum nas diferentes coleções. A análise de fingerprinting de DNA é uma ferramenta poderosa para a identificação desses erros e tem sido utilizada em vários trabalhos (CAETANO-ANOLLES et al., 1997; SMITH, 1998). Praticamente todos os tipos de marcadores moleculares do DNA podem ser utilizados para a identificação de acessos por fingerprinting, embora diferenças relativas ao conteúdo de informação genética por loco, número de polimorfismos detectados, dificuldade e custo da análise são observadas entre os diferentes marcadores (POWELLl et al., 1996; RUSSEL et al., 1997; PEJIC, 1998; MCGREGOR et al., 2000; FALEIRO et al., 2003a; FALEIRO, 2004a). De modo geral, marcadores codominantes e multialélicos são os mais indicados para os estudos de identificação e testes de paternidade.

A realização de testes de paternidade para o conhecimento da genealogia de acessos de bancos de germoplasma é importante, principalmente para a escolha de potenciais genitores para programas de melhoramento genético. Essa aplicação pode se ilustrada pelos trabalhos de Yamada e Lopes (1999) e Faleiro et al. (2001) e Faleiro et al. (2004d) e Faleiro et al. (2004e), que analisaram a paternidade e origem genética de seleções de cacaueiros resistentes à vassoura-de-bruxa com o objetivo de identificar potenciais genitores que pudessem ser utilizados em programas de melhoramento para ampliar a base genética da resistência.

Auxílio em trabalhos de classificação botânica e filogenia

A classificação botânica, muitas vezes, não é um processo fácil, considerando a alta variabilidade intraespecífica e o efeito ambiental sobre o fenótipo diferenciador entre espécies e variedades botânicas dentro da espécie. Marcadores moleculares podem ser utilizados para auxiliar trabalhos de classificação botânica e filogenia, considerando o poder de diferenciação inter e intraespecífico (LAKSHMI et al., 1997; OUBORG et al., 1999.; KIM et al., 1999; NICOLOSI et al., 2000; CHANDLERr et al., 2001; RAINA et al., 2001; FALEIRO et al., 2003c; FALEIRO et al., 2003d). Na Figura 5, ilustra-se a diferenciação interespecífica de três espécies do gênero *Stylosanthes* e, na Figura 6, a diferenciação de variedades botânicas de *Stylosanthes guianensis* verificada com base em marcadores moleculares RAPD.

Os marcadores moleculares têm um grande potencial como ferramenta auxiliar em trabalhos de classificação botânica e em estudos de filogenia, entretanto nunca irão substituir o trabalho essencial e de grande importância dos botânicos.

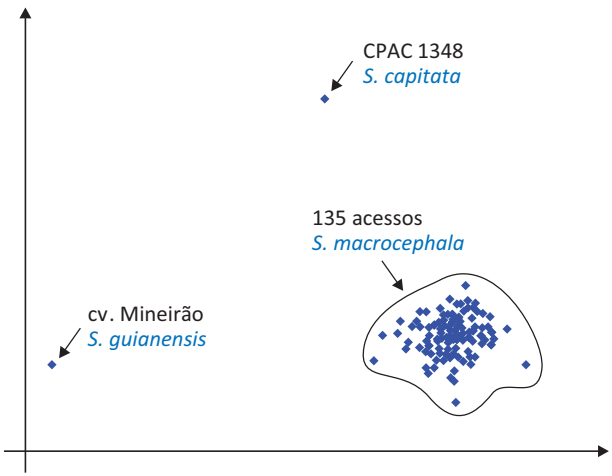


Figura 5. Diferenciação de três espécies do gênero Stylosanthes com base na diversidade genética analisada com o uso de marcadores moleculares RAPD.

Fonte: Faleiro et al. (2003d).

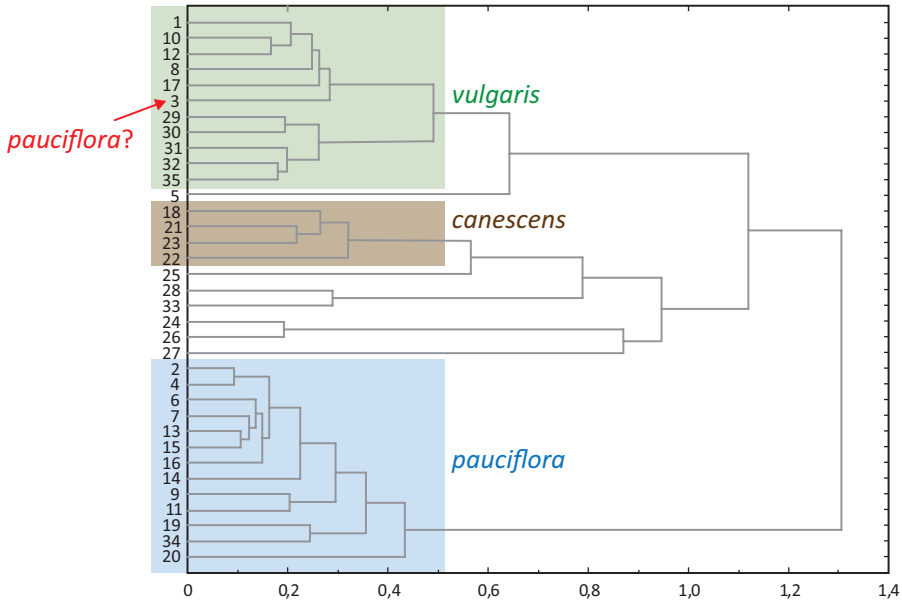


Figura 6. Diferenciação de variedades botânicas de *Stylosanthes guianensis* com base em distâncias genéticas calculadas com o uso de marcadores moleculares RAPD. Um erro de classificação fenotípica do acesso 3 (seta vermelha) como pertencente à variedade botânica pauciflora foi detectado com base nos marcadores moleculares. Uma revisão da classificação fenotípica desse acesso mostrou que ele pertencia à variedade botânica vulgaris.

Composição e validação de coleções nucleares e de trabalho com base em estudos de diversidade genética

A coleção nuclear é um grupo de acessos que representa a diversidade genética de uma coleção original. De modo geral, a coleção nuclear possui 10% a 15% do tamanho e representa mais de 70% da variabilidade genética da coleção original. Normalmente, a coleção original é uma coleção base, ou seja, uma coleção abrangente de acessos da espécie de interesse e de seus parentes silvestres (VALOIS et al., 1996; VALOIS et al., 2002). Logicamente, o princípio da composição de coleções nucleares pode ser aplicado em diferentes tipos de coleções de germoplasma, como as coleções ativas e as coleções de trabalho.

A composição de coleções nucleares não tem como objetivo a substituição de uma coleção base ou coleção ativa, nem mesmo de uma coleção de trabalho muito especializada. Um dos principais objetivos é facilitar e viabilizar a caracterização e avaliação de acessos de bancos de germoplasma, o que é fundamental e subsidia a utilização prática de tais recursos genéticos e sua incorporação em programas de melhoramento. Muitas vezes, a avaliação agronômica, a qual necessita da montagem de experimentos com repetições em vários ambientes, é muito difícil, principalmente quando um número elevado de acessos deve ser avaliado ao mesmo tempo. Estratégias para reduzir o número de acessos de uma coleção base sem a perda muito significativa da variabilidade genética, às vezes, é fundamental para viabilizar a montagem de tais experimentos.

A estrutura da coleção nuclear e sua dimensão, além de facilitar a caracterização do germoplasma, estimula o usuário a utilizar os recursos genéticos com maior eficiência (UPADHYAYA; ORTIZ, 2001). Na composição da coleção nuclear, cada acesso vai representar a variabilidade genética de outros acessos que ficaram no mesmo grupo de similaridade. Após uma caracterização detalhada da coleção nuclear, caso seja verificado o potencial de um determinado acesso, tal potencial pode ser extrapolado para todos os acessos do mesmo grupo de similaridade, o que pode ser confirmado por meio de caracterizações detalhadas desses acessos.

Várias coleções nucleares de diferentes espécies têm sido desenvolvidas utilizando diferentes tipos de características e estratégias de amostragem (DIWAN et al., 1995; MARITA et al., 2000; TAI; MILLER, 2001 CHANDRA et al.; 2002; LI et al.; 2004). Entre as características utilizadas para o estabelecimento de coleções nucleares, estão os dados de pedigree, características ecogeográficas, morfológicas, fisiológicas, agronômicas, bioquímicas e moleculares (LI et al., 2004). Entre as características utilizadas, marcadores moleculares têm sido utilizados tanto para a composição quanto para a validação de coleções nucleares (GEPTS, 1995; TOHME et al., 1996; SKROCH et al., 1998; HOKANSON et al.,

1998; GHISLAIN et al., 1999; GRENIER et al., 2000; HUAMAN et al., 2000; FALEIRO et al., 2003d; LI et al., 2004).

O princípio mais utilizado na composição de coleções nucleares é analisar a variabilidade genética da coleção base, subdividir todos os acessos em grupos de similaridade genética e selecionar um acesso para representar cada grupo, de modo que os acessos selecionados representem mais de 70% da variabilidade genética inicial. Na Figura 7, ilustra-se o princípio acima utilizado para reduzir uma população base de 136 acessos de *Stylosanthes macrocephala* para uma de 20 acessos (FALEIRO et al., 2003d).

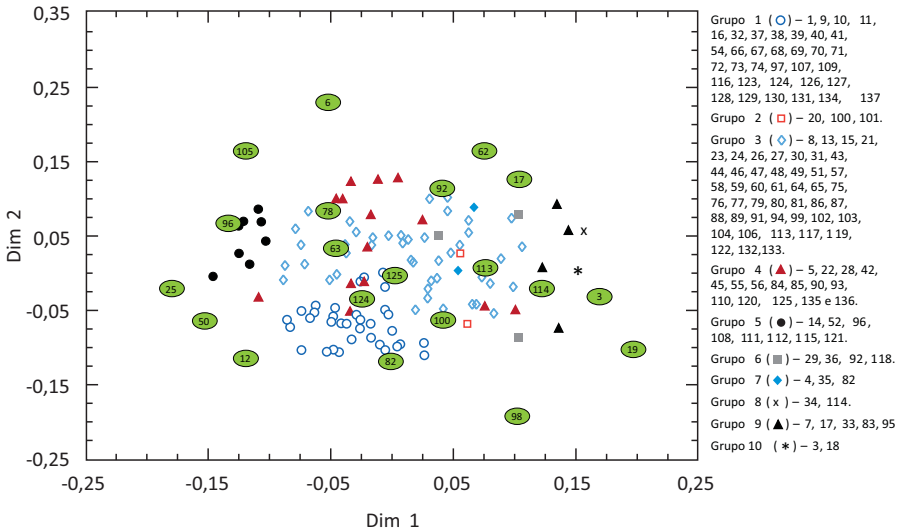


Figura 7. Dispersão gráfica de 136 acessos de *Stylosanthes macrocephala* com base em distâncias genéticas calculadas usando marcadores moleculares. Os acessos em verde são aqueles selecionados para a composição de uma coleção para representar a variabilidade genética da coleção inicial.

Fonte: Faleiro et al. (2003d).

Com relação à validação de coleções nucleares, o princípio é analisar a variabilidade genética da coleção base e da coleção nuclear e verificar a % da variabilidade presente na coleção nuclear. Para essa análise, cál-

culos de distâncias genéticas entre os acessos da coleção base e da coleção nuclear com base em polimorfismos do DNA, cálculos da riqueza e frequência alélica baseado em marcadores multialélicos e codominantes podem ser utilizados com sucesso.

Obtenção de marcas moleculares associadas a características agronômicas como subsídio para o estudo da diversidade genética funcional

A disponibilidade de marcadores moleculares fortemente associados a características de interesse permitiria uma análise mais rápida e acurada da diversidade genética funcional da coleção de germoplasma. O primeiro passo para a aplicação acima é estabelecer correlações genéticas entre os marcadores moleculares e características agronômicas de interesse. Em virtude da grande quantidade de marcadores moleculares disponíveis e de softwares apropriados para análises de ligação e correlação genética, a identificação de marcadores moleculares ligados a diferentes características de interesse têm sido realizada com sucesso em diferentes espécies (PATERSON et al., 1991; LU et al., 1997; BERNACCHI et al., 1998; KICHERER et al., 2000; TUBEROSA et al., 2002; FALEIRO et al., 2003e; FALEIRO et al., 2003f; LACAPE et al., 2005). Grande parte das características de interesse, principalmente aquelas relacionadas à produtividade, são características quantitativas determinadas pela combinação de diferentes genes e nesse caso o mapeamento das mesmas é feito com base nos Quantitative Trait Loci (QTLs), ou seja, locus relacionados a características quantitativas.

Embora existam numerosos trabalhos de detecção e mapeamento de QTLs utilizando marcadores moleculares, poucos são os exemplos de variedades comerciais obtidas com o auxílio de marcadores moleculares na seleção de QTLs. Segundo Guimarães e Moreira (1999), a baixa variabilidade genética dos genitores utilizados nos programas de melhoramento e a falta de interação entre as equipes envolvidas no mapeamento

genético e no melhoramento genético são fatores que contribuem para esse fato. Outros fatores importantes estão relacionados à repetitividade da informação de ligação entre o marcador molecular e o QTL, à interação entre o QTL e o ambiente e à seleção simultânea de várias características muitas vezes correlacionadas. Outro fator que dificulta o uso de marcadores moleculares na seleção indireta de características agronômicas é a validação desses QTLs para outras populações e outros ambientes e a dificuldade de selecionar concomitantemente vários QTLs, cada um explicando uma parte da variação fenotípica da característica de interesse (FALEIRO, 2003g).

No caso do estudo da diversidade funcional de bancos de germoplasma com base em marcadores moleculares, as dificuldades são as mesmas mencionadas para a seleção das características quantitativas com base nesses marcadores genéticos. As dificuldades são menores para características qualitativas cujo marcador molecular é o próprio gene. No caso de bancos de germoplasma, uma possibilidade interessante é relacionar a diversidade genética obtida com base em marcadores moleculares com a diversidade genética funcional obtida com base em características agronômicas, a exemplo do estudo feito por Pires et al. (2000). No trabalho de Pires et al. (2000), além do relacionamento entre diversidade genética molecular e funcional, a frequência de locos RAPD associados a acessos com resistência à vassoura-de-bruxa foram usados para indicar possíveis associações entre os marcadores e a característica.

Considerações Finais

As diferentes metodologias da genética molecular, principalmente os marcadores moleculares do DNA, apresentam várias aplicações para resolver problemas e aumentar a eficiência dos programas de conservação e uso dos recursos genéticos vegetais. As aplicações podem gerar informações úteis para as diferentes estratégias de conservação dos re-

cursos genéticos (ex situ, in situ e on farm) e para as diferentes etapas de cada estratégia (coleta, manutenção, caracterização, manejo, ampliação e uso dos recursos). Logicamente, esses marcadores não podem substituir os outros tipos de marcadores genéticos como os baseados nos caracteres morfoagronômicos. Além disso, práticas de avaliação fenotípica contabilizando os efeitos ambientais e das interações genótipo x ambiente continuarão sendo de grande importância e essenciais para subsidiar a utilização prática dos recursos genéticos nos sistemas de produção e nos programas de melhoramento.

Referências

ABDELNOOR, R. V.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Determination of genetic diversity within brazilian soybean germplasm using random amplified polymorphic DNA techniques and comparative analysis with pedigree data. **Brazilian Journal of Genetics,** v. 18, p. 265-273, 1995.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa, MG: Editora UFV, 1998. 574 p.

AYAD, W. G.; HODGKIN, T.; JARADAT, A.; RAO, V. R. (Ed.). **Molecular genetic techniques for plant genetic resources**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1997. 137 p.

BERNACCHI, D.; BECK-BUNN, T.; ESHED, Y.; LOPEZ, J.; PETIARD, V.; UHLIG, J.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. Advanced backcross QTL analysis in tomato. I. Identification of QTLs for traits of agronomic importance from *Lycopersicon hirsutum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p. 381-397, 1998.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas.** Viçosa, MG: Editora UFV, 1997. 574 p.

BORNER, A.; CHEBOTAR, S.; KORZUN, V. Molecular characterization of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm after long-term maintenance. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 494-497, 2000.

BRASIL. Ministério das Minas e Energia. Secretaria Geral. **Projeto Radam Brasil.** Rio de Janeiro, 1981. 640 p.

CAETANO-ANOLLES, G.; CALLAHAN, L. M.; GRESSHOFF, P. M. The origin of bermudagrass (Cynodon) off-types inferred by DNA amplification fingerprinting. **Crop Science**, v. 37, p. 81-87, 1997.

CERVERA, M. T.; CABEZAS, J. A.; SANCHA, J. C.; MARTINEZ, D. E.; TODA, F.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources: a case study with accessions from Rioja (Spain). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p. 51-59, 1998.

CHANDLER, G. T.; BAYER, R. J.; CRISP, M. D. A molecular phylogeny of the endemic Australian genus Gastrolobium (Fabaceae: Mirbelieae) and allied genera using chloroplast and nuclear markers. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 1675-1687, 2001.

CHANDRA, S.; HUAMAN, Z.; HARI KRISHNA, S.; ORTIZ, R. Optimal sampling strategy and core collection size of Andean tetraploid potato based on isozyme data – a simulation study. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104. p. 1325-1334, 2002.

CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P.; MAYA, M. M.; TOHME, J.; DUQUE, M. C.; IGLESIAS, C.; BONIERBALE, M. W.; KRESOVICH, S.; KOCHERT, G. Using microsatellites, isozymes and AFLPs to evaluate genetic diversity and redundancy in the cassava core collection and to assess the usefulness of DNA-based markers to maintain germplasm collections. **Molecular Breeding**, v. 5, p. 263-273, 1999.

CHEN, X. M.; LINE, R. F.; LEUNG, H. Genome scanning for resistance-gene analogs in rice, barley, and wheat by high-resolution electrophoresis. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p. 345-355, 1998.

CHO, R. J.; MINDRINOS, M.; RICHARDS, D. R.; SAPOLSKY, R. J.; ANDERSON, M.; DRENKARD, E.; DEWDNEY, J.; REUBER, T. L.; STAMMERS, M.; FEDERSPIEL, N.; THEOLOGIS, A.; YANG, W. H.; HUBBELL, E.; AU, M.; CHUNG, E. Y.; LASHKARI, D.; LEMIEUX, B.; DEAN, C.; LIPSHUTZ, R. J.; AUSUBEL, F. M.; DAVIS, R. W.; OEFNER, P. J. Genome-wide mapping with biallelic markers in Arabidopsis thaliana. **Nature Genetics**, v. 23, p. 203-207, 1999.

CORRÊA, R. X.; ABDELNOOR, R. V.; FALEIRO, F. G.; CRUZ, C. D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Genetic distances in soybean based on RAPD markers. **Bragantia**, Campinas, v. 58, p. 15-22, 1999.

CORRÊA, R. X.; COSTA, M. R.; GOOD-GOD, P. I.; RAGAGNIN, V. A.; FALEIRO, F. G.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Sequence characterized amplified regions linked to rust resistance genes in the common bean. **Crop Science,** v. 40, p. 804-807, 2000.

COSTA, A. M. **Uso de marcadores RAPD e do sistema de informação geográfica no estudo da variabilidade genética e ecológica de** *Stylosanthes macrocephala* **M. B. Ferr et S. Costa.** 2004. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2004.

COUCH, J. A.; FRITZ, P. J. Isolation of DNA from plants high in polyphenols. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 8, p. 8-12, 1990.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, MG: Editora UFV, 1997. 648 p.

DEAN, R. E.; DAHLBERG, J. A.; HOPKINS, M. S.; MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S. Genetic redundancy and diversity among 'orange' accessions in the US National Sorghum Collection as assessed with simple sequence repeat (SSR) markers. **Crop Science**, v. 39, p. 1215-1221, 1999.

DEL RIO, A. H.; BAMBERG, J. B.; HUAMAN, Z. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene banks. 1. Effects of seed increase. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 191-198, 1997b.

DEL RIO, A. H.; BAMBERG, J. B.; HUAMAN, Z.; SALAS, A.; VEJA, S. E. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene banks: 2. *In situ* vs *ex situ*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 199-204, 1997a.

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins.** Viçosa, MG: Editora UFV, 1998. p. 405-475.

DIWAN, N.; MCLNTOSH, 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.

FALEIRO, A. S. G.; FALEIRO, F. G; LOPES, U. V.; MELO, G. R. P.; MONTEIRO, W. R.; YAMADA, M. M.; BAHIA, R. C. S.; CORRÊA, R. X. Variability in cacao selected by producers for resistance to witches' broom based on microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, p. 290-297, 2004e.

FALEIRO, F. G. Aplicações de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar em programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético vegetal. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biotecnologia**: estado da arte e aplicações na agropecuária. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011b. p. 54-118.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FALEIRO, F. G. Princípio científico e análises genéticas utilizando marcadores moleculares. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biotecnologia**: estado da arte e aplicações na agropecuária. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011a. p. 30-52.

FALEIRO, F. G. Seleção assistida por marcadores moleculares: diferentes aplicações: mesa redonda. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2003g. 1 CD-ROM. 6 p.

FALEIRO, F. G.; ANDRADE, R. P.; KARIA, C. T.; CORDEIRO, M. C. R.; SOUZA, T. L. P. O.; MÉRIDA, J. L. Similaridade genética de acessos de *Arachis pintoi* com diferentes níveis de produtividade de matéria seca com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003b. 1 CD-ROM. 5 p.

FALEIRO, F. G.; BARROS, A. M.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R.; KARIA, C. T.; GOMES, A. C.; ANDRADE, R. P. Caracterização molecular e estabelecimento de coleção de trabalho de *Stylosanthes macrocephala* com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003d. 1 CD-ROM. 7 p.

FALEIRO, F. G.; FERNANDES, F. D.; KARIA, C. T.; BELLON, G.; RAMOS, A. K. B.; MARTHA JÚNIOR, G. B.; ANDRADE, R. P.; JANK, L. Diversidade genética de uma coleção de trabalho de *Panicum maximum* com base em marcadores moleculares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004c. 1 CD-ROM. 5 p.

FALEIRO, F. G.; KARIA, C. T.; ANDRADE, R. P.; BARROS, A. M.; SILVA, D. O. C. Diversidade genética de uma coleção de trabalho de Stylosanthes guianensis com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003c. 1 CD-ROM. 6 p.

FALEIRO, F. G.; KARIA, C. T.; ANDRADE, R. P.; RAMOS, A. K. B. Seleção de genitores de *Stylosanthes guianensis* utilizando a diversidade genética analisada com base em características morfológicas, agronômicas e moleculares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004b. 1 CD-ROM. 6 p.

FALEIRO, F. G.; LOPES, U. V.; YAMADA, M. M.; MELO, G. R. P.; MONTEIRO, W. R.; PIRES, J. L.; ROCHA, J. B.; BAHIA, R. C. S.; GOMES, L. M. C.; ARAÚJO, I. S.; FALEIRO, A. S. G. Genetic diversity of cacao accessions selected for resistance to witches' broom disease based on RAPD Markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology,** v. 4, p. 12-17, 2004d.

FALEIRO, F. G.; LOPES, U. V.; YAMADA, M. M.; PIRES, J. L.; BAHIA, R. C. S.; SANTOS, R. S.; GOMES, L. M. C.; ARAÚJO, I. S.; FALEIRO, A. S. G.; GRAMACHO, K. P.; MELO, G. R. P.; MONTEIRO, W. R.; VALLE, R. R. Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L. com base em marcadores RAPD, AFLP e microssatélites. **Agrotrópica**, v. 13, p. 79-86, 2001.

FALEIRO, F. G.; PIRES, J. L.; LOPES, U. V. Uso de marcadores moleculares RAPD e microssatélites visando a confirmação da fecundação cruzada entre *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. **Agrotrópica,** v. 15, p. 41-46, 2003a.

FALEIRO, F. G.; PIRES, J. L.; MONTEIRO, W. R.; LOPES, U. V.; YAMADA, M. M.; PIEDRA, A. G.; MOURA, A. D., ARÉVALO-GARDINI, E.; MARQUES, J. R. B.; GRAMACHO, K. P.; FALEIRO, A. S. G.; SANTOS, M. C. M. Variability in cacao accessions from the Brazilian, Ecuadorian, and Peruvian Amazons based on molecular markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology,** v. 4, p. 227-233, 2004a.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; SHUSTER, I.; CORRÊA, R. X.; GOOD-GOD, P. I.; BROMMONSHENKEL, S. H.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro-comum à ferrugem, antracnose e mancha-angular com o auxílio de marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 59-66, 2003f.

FALEIRO, F. G.; SCHUSTER, I.; RAGAGNIN, V. A.; CRUZ, C. D.; CORRÊA, R. X.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E.G. Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associadas a ciclo e produtividade do feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1387-1397, 2003e.

FALEIRO, F. G.; YAMADA, M. M.; LOPES, U. V.; FALEIRO, A. S. G.; BAHIA, R. C. S.; GOMES, L. M. C.; SANTOS, R. C.; SANTOS, R. F. Genetic similarity of *Theobroma cacao* L. accessions maintained in duplicates in the Cacao Research Center germplasm collection, based on RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, p. 435-440, 2002.

FERREIRA, J. J.; ALVAREZ, E.; FUEYO, M. A.; ROCA, A.; GIRALDEZ, R. Determination of the outcrossing rate of *Phaseolus vulgaris* L. using seed protein markers. **Euphytica**, v. 113, p. 257-261, 2000.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética.** Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20).

FIGUEIRA, A.; LAMBERT, S. V.; CARPENTER, D.; PIRES, J. L.; CASCARDO, J. C. M.; ROMANCZYK, L. The similarity of cocoa flavour of fermented seeds from fingerprinting genotypes of *Theobroma cacao* from Brazil and Malaysia. **Tropical Agriculture,** v. 74, p. 132-139, 1997.

FLAVELL, A. J.; KNOX, M. R.; PEARCE, S. R.; ELLIS, T. H. N. Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. **The Plant Journal**, v. 16, p. 643-650, 1998.

GEPTS, P. Genetic markers and core collections. In: HODGKIN, T.; BROWN, A. H. D.; HINTUM, TH. J. L. VAN; MORALES, E. A. V. (Ed.). **Core Collections of Plant Genetic Resources.** Chichester: John Wiley & Sons, 1995. p. 127-146.

GHISLAIN, M.; ZHANG, D.; FAJARDO, D.; HUAMAN, Z.; HIJMANS, R. J. Marker-assisted sampling of the cultivated Andean potato *Solanum phureja* collection using RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 46, p. 547-555, 1999.

GODWIN, I. D.; AITKEN, E. A. B.; SMITH, L. W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. **Electrophoresis**, v. 18, p. 1524-1528, 1997.

GOTO, S.; THAKUR, R. C.; ISHII, K. Determination of genetic stability in long-term micropropagated shoots of *Pinus thunbergii* Parl. using RAPD markers. **Plant Cell Reports**, v. 18, p. 193-197, 1998.

GOWER, J. C. A general coefficiente of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v. 27, p. 857-874, 1971.

GOWER, J. C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. **Biometrika**, v. 53, p. 325-338, 1966.

GREENE, S. L.; HART, T. C.; AFOONIN, A. Using geographic information to acquire wild crop germoplasm for *ex situ* collections: II Post-colletion analysis. **Crop Science,** v. 41, p. 234-240, 2001.

GRENIER, C.; DEU, M.; KRESOVICH, S.; BRAMEL-COX, P. J.; HAMON, P. Assessment of genetic diversity in three subsets constituted from the ICRISAT sorghum collection using random vs non-random sampling procedures B. Using molecular markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, p. 197-202, 2000.

GUARINO, L.; JARVIS, A.; HIJMANS, R. J.; MAXTED, N. Geographic information systems (GIS) and the conservation and use of plant genetic resource. In: EGELS, J. M. M.; RAMATHA RAO, V.; BROWN, A. H. D.; JACKSON, M. T.; (Ed.). **Managing plant genetic diversity.** Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 387-404.

GUIMARÃES, C. T.; MOREIRA, M. A. Genética molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas.** Viçosa, MG: Editora UFV. 1999. p. 715-740.

HAYASHI, K. PCR-SSCP: a method for detection of mutations. **Genetic Analysis: techniques and applications**, v. 9, p. 73-79, 1992.

HELA, S.; SALWA, Z.; SALEM ALI, O. M.; ABDELMAJID, R.; MOHAMED, M.; MOKHTAR, T. Genetic polymorphism of plastid DNA in Tunisian date-palm germplasm (*Phoenix dactylifera* L.) detected with PCR-RFLP. **Genetic Resources and Crop Evolution,** v. 51, p. 479-487, 2004.

HINTUM TH, J. L.; VAN VISSER, D. L. Duplication within and between germplasm collections: II. duplication in four european barley collections. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 42, p. 135-145, 1995.

HOKANSON, S. C.; SZEWC-MCFADDEN, A. K.; LAMBOY, W. F.; MCFERSON, J. R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a Malus x domestica borkh. core subset collection. **Theoretical and Applied Genetics,** v. 97, p. 671-683, 1998.

HUAMAN, Z.; ORTIZ, R.; ZHANG, D. P.; RODRIGUEZ, F. Isozyme analysis of entire and core collections of *Solanum tuberosum* subsp *andigena* potato cultivars. **Crop Science**, v. 40, p. 273-276, 2000.

HUANG, H. W.; LAYNE, D. R.; RIEMENSCHNEIDER, D. E. Genetic diversity and geographic differentiation in pawpaw [*Asimina triloba* (L) Dunal] populations from nine states as revealed by allozyme analysis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 123, p. 635-641, 1998.

HUANG, X.; BÖRNER, A.; RÖDER, M.; GANAL, M. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, p. 699-707, 2002.

ISABEL, N.; TREMBLAY, L.; MICHAUD, M.; TREMBLAY, F. M.; BOUSQUET, J. RAPDs as an aid to evaluate the genetic integrity of somatic embryogenesis-derived populations of *Picea mariana* (Mill.) B.S.P. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 86, p. 81-87, 1993.

JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. **Nature**, v. 314, p. 67-73, 1985.

KALENDAR, R.; GROB, T.; REGINA, M.; SUONIEMI, A.; SCHULMAN, A. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 704-711, 1999.

KARP, A.; KRESOVICH, S.; BHAT, K. V.; AYAD, W. G.; HODGKIN, T. **Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies.** Rome: IPGRI, 1997. 47 p. (Technical Bulletin 2).

KICHERER, S.; BACKES, G.; WALTHER, U.; JAHOOR, A. Localising QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Theoretical and Applied Genetics,** v. 100, p. 881-888, 2000.

KIM, S. C.; CRAWFORD, D. J.; JANSEN, R. K.; SANTOS-GUERRA, A. The use of a non-coding region of chloroplast DNA in phylogenetic studies of the subtribe Sonchinae (Asteraceae: Lactuceae). **Plant Systematics and Evolution,** v. 215, p. 85-99, 1999.

LACAPE, J. M.; NGUYEN, T. B.; COURTOIS, B.; BELOT, J. L.; GIBAND, M.; GOURLOT, J. P.; GAWRYZIAK, G.; ROQUES, S.; HAU, B. QTL Analysis of Cotton Fiber Quality Using Multiple *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* Backcross Generations. **Crop Science**, v. 45, p. 123-140, 2005.

LAKSHMI, M.; RAJALAKSHMI, S.; PARANI, M.; ANURATHA, C. S.; PARIDA, A. Molecular phylogeny of mangroves I. Use of molecular markers in assessing the intraspecific genetic variability in the mangrove species *Acanthus ilicifolius* Linn. (Acanthaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, p. 1121-1127, 1997.

LAMBOY, W. F.; MCFERSON, J. R.; WESTMAN, A. L.; KRESOVICH, S. Application of isozyme data to the management of the United States national *Brassica oleracea* L. genetic resources collection. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 41, p. 99-108, 1994.

LAMBOY, W. F.; YU, J.; FORSLINE, P. L.; WEEDEN, N. F. Partitioning of allozyme diversity in wild populations of *Malus sieversii* L. and implications for germplasm collection. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, p. 982-987, 1996.

LEMIEUX, B.; AHARONI, A.; SCHENA, M. Overview of DNA chip technology. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 4, p. 277-289, 1998.

LI, C. T.; SHI, C. H.; WU, J. G.; XU, H. M.; ZHANG, H. Z.; REN, Y. L. Methods of developing core collections based on the predicted genotypic value of rice (Oryza sativa L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, p. 1172-1176, 2004.

LITT, M.; LUTH, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene**. American Journal of Human Genetics,** v. 44, p. 398-401, 1989.

LIVINI, C.; AJMONE-MARSAN, P.; MELCHINGER, A. E.; MESSEMER, M. M.; MOTTO, M. Genetic diversity of maize inbred lines within and among heterotic group revealed by RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 84, p. 17-25, 1992.

LU, C. F.; SHEN, L. S.; TAN, Z. B.; XU, Y. B.; HE, P.; CHEN, Y.; ZHU, L. H. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments by using a doubled-haploid population. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, p. 145-150, 1997.

MARITA, J. M.; RODRIGUEZ, J. M.; NIENHUIS, J. Development of an algorithm identifying maximally diverse core collections. **Genetic Resources and Crop Evolution,** v. 47, p. 515-526, 2000.

McGREGOR, C. E.; LAMBERT, C. A.; GREYLING, M. M.; LOUW, J. H.; WARNICH, L. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. **Euphytica,** v. 113, p. 135-144, 2000.

McGREGOR, C. E.; TREUREN, R. VAN; HOEKSTRA, R.; HINTUM, TH. J. L. Van. Analysis of the wild potato germplasm of the series Acaulia with AFLPs: implications for ex situ conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, p. 146-156, 2002.

MORGANTE, M.; OLIVIERI, A. M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**, v. 3, p. 175-182, 1993.

NEBAUER, S. G.; DEL CASTILLO-AGUDO, L.; SEGURA, J. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing willow-leaved foxglove (*Digitalis obscura* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 985-994, 1999.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variations in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v. 76, p. 5269-5273, 1979.

NICOLOSI, E.; DENG, Z. N.; GENTILE, A.; LA MALFA, S.; CONTINELLA, G.; TRIBULATO, E. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 1155-1166, 2000.

NORUSIS, M. J. **SPSS for Windows, Advanced Statistics:** release 6.0. Chicago: SPSS Inc., 1993.

OUBORG, N. J.; PIQUOT, Y.; VAN GROENENDAEL, J. M. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. **Journal of Ecology,** v. 87, p. 551-568, 1999.

PARAN, I.; MICHELMORE, R. W. Development of reliable PCR based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics,** v. 85, p. 985-993, 1993.

PARZIES, H. K.; SPOOR, W.; ENNOS, R. A. Genetic diversity of barley landrace accessions (*Hordeum vulgare* ssp *vulgare*) conserved for different lengths of time in ex situ gene banks. **Heredity**, v. 84, p. 476-486, 2000.

PATERSON, A. H.; DAMON, S.; HEWITT, J. D.; ZAMIR, D.; RABINOWITCH, H. D.; LINNCOLN, S. E.; LANDER, E. S.; TANKSLEY, S. D. Mendelian factors

underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations, and environments. **Genetics**, v. 127, p. 181-197, 1991.

PEJIC, I.; AJMONE-MARSAN, P.; MORGANTE, M.; KOZUMPLICK, V.; CASTIGLIONI, P.; TARAMINO, G.; MOTTO, M. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p. 1248-1255, 1998.

PIRES, J. L.; MARITA, J. M.; LOPES, U. V.; YAMADA, M.M.; AITKEN, W. M.; MELO, G. P.; MONTEIRO, W. R.; AHNERT, D. Diversity for phenotypic traits and molecular markers in CEPEC's germplasm collection in Bahia, Brazil. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON NEW TECHNOLOGIES AND COCOA BREEDING, 2000, Kota Kinabalu. **Proceedings...** Kota Kinabalu: Ingenic, 2000. p. 72-88.

POWELL, W.; MORGANTE, M.; ANDRE, C.; HANAFEY, M.; VOGEL, J.; TINGEY, S.; RAFALSKI, A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding**, v. 2, p. 225-238, 1996.

RAINA, S. N.; RANI, V.; KOJIMA, T.; OGIHARA, Y.; SINGH, K. P.; DEVARUMATH, R. M. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (Arachis hypogaea) cultivars and wild species. **Genome,** v. 44, p. 763-772, 2001.

RAMSAY, G. DNA chips: state-of-the art. **Nature Biotechnology**, v. 16, p. 40-44, 1998.

REEDY, M. E.; KNAPP, A. D.; LAMKEY, K. R. Isozyme allelic frequency changes following maize (*Zea mays* L.) germplasm regeneration. **Maydica**, v. 40, p. 269-273, 1995.

REEDY, M. E.; KNAPP, A. D.; LAMKEY, K. R. Isozyme allelic frequency changes following maize (*Zea mays* L.) germplasm regeneration. **Maydica**, v. 40, p. 269-273, 1995.

RICK, C. M.; ZOBEL, R. W.; FOBES, J. F. Four peroxidase loci in red-fruited tomato species: genetics and geographic distribution. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 71, p. 835-839, 1974.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system:** version 1.70. New York: Exeter Software, 1992. 217p.

RUSSELL, J. R.; FULLER, J. D.; MACAULAY, M.; HATZ, B. G.; JAHOOR, A.; POWELL, W.; WAUGH, R. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 714-722, 1997.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT user´s guide: v**ersion 6. 4 ed. North Caroline: SAS Institute, 1989. 846 p.

SICARD, D.; WOO, S. S.; ARROYO-GARCIA, R.; OCHOA, O.; NGUYEN, D.; KOROL, A.; NEVO, E.; MICHELMORE, R. Molecular diversity at the major cluster of disease resistance genes in cultivated and wild *Lactuca* spp. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, p. 405-418, 1999.

SKROCH, P. W.; NIENHUIS, J.; BEEBE, S.; TOHME, J.; PEDRAZA, F. Comparison of Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) core and reserve germplasm collections. **Crop Science**, v. 38, p. 488-496, 1998.

SMITH, S. Cultivar identification and varietal protection. In: CAETANO ANNOLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. (Ed.). **DNA markers**: protocols, applications and overviews. New York: Wiley VCH. 1998. p. 383-400.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: Freeman and Company, 1973. 573 p.

SPAGNOLETTI-ZEULI, P. L.; SERGIO, L.; PERRINO, P. Changes in the genetic structure of wheat germplasm accessions during seed rejuvenation. **Plant Breeding**, v. 114, p. 193-198, 1995.

STATSOFT INC. **Statistica for windows: computer program manual.** Tulsa: StatSoft Inc., 1999. Disponível em: <http://www.statsoft.com>.

STEINER, A. M.; RUCKENBAUER, P.; GOECKE, E. Maintenance in genebanks, a case study: contaminations observed in the Nurnberg oats of 1831. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 44, p. 533-538, 1997.

TAI, P. Y. P.; MILLER, J. D. A core collection for *Saccharum spontaneum* L. from the world collection of sugarcane. **Crop Science**, v. 41, p. 879-885, 2001.

TANKSLEY, S. D. Molecular markers in plant breeding. **Plant Molecular Biology Report**, v. 1, p. 3-8, 1983.

TANKSLEY, S. D.; JONES, R. A. Application of alcohol dehydrogenase allozymes in testing the genetic purity of F1 hybrids of tomato. **HortScience**, v. 16, p. 179-181, 1981.

TOHME, J.; GONZALEZ, D. O.; BEEBE, S. DUQUE, M. C. AFLP analysis of gene pools of a wild bean core collection. **Crop Science**, v. 36, p. 1375-1384, 1996.

TREUREN, R. VAN; HINTUM, Th. J. L. Van Identification of intra-accession genetic diversity in selfing crops using AFLP markers: implications for collection management. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, p. 287-295, 2001.

TUBEROSA, R.; SALVI, S.; SANGUINETI, M. C.; LANDI, P.; MACCAFERRI, M.; CONTI, S. Mapping QTLs Regulating Morpho-physiological Traits and Yield: Case Studies, Shortcomings and Perspectives in Drought-stressed Maize. **Annals of Botany**, v. 89, p. 941-963, 2002.

UPADHYAYA, H. D.; ORTIZ, R. A mini core subset for capturing diversity and promoting utilization of chickpea genetic resources in crop improvement **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, p. 1292-1298, 2001.

VALOIS, A. C. C.; SALOMAO, A. L.; ALLEM, A. C. (Ed.). **Glossário de recursos genéticos vegetais.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2002. Disponível em: <http://www.cenargen.embrapa.br/recgen/sibrargen/glossario/welcome.html.>

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

VASCONCELOS, M. J.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA-based molecular markers. **Brazilian Journal of Genetics,** v. 19, p. 447-451, 1996.

VIRK, P. S.; NEWBURY, H. J.; JACKSON, M. T.; FORD-LLOYD, B. V. The identification of duplicate accessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 90, p. 1049-1055, 1995.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIGTRS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleics Acids Research**, v. 23, p. 4407- 4414, 1995.

WAUGH, R.; MCLEAN, K.; FLAVELL, A. J.; PEARCE, S. R.; KUMAR, A.; THOMAS, B. B. T.; POWELL, W. Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP). **Molecular and General Genetics**, v. 253, p. 687-694, 1997.

WAYCOTT, W.; FORT, S. B. Differentiation of nearly identical germplasm accessions by a combination of molecular and morphologic analyses. **Genome**, v. 37, p. 577-583, 1994.

WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research,** v. 18, p. 7213-7218, 1990.

WILLIAMS, M. N. V.; PANDE, N.; NAIR, S.; MOHAN, M.; BENNETT, J. Restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain reaction products amplified from mapped loci of rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics,** v. 82, p. 489-498, 1991.

WU, X. M.; WU, N. F.; QIAN, X. Z.; LI, R. G.; HUANG, F. H.; ZHU, L. Phenotypic and genotypic changes in rapeseed after 18 years of storage and regeneration. **Seed Science Research**, v. 8, p. 55-64, 1998.

YAMADA, M. M.; LOPES, U. V. Paternity analysis of cacao trees selected for resistance to witches' broom disease in plantations of Bahia, Brazil **Agrotrópica**, v. 11, p. 83-88, 1999.

ZIMMERER, K. S.; DOUCHES, D. S. Geographical approaches to crop conservation: the partitioning of genetic diversity in Andean potatoes. **Economic Botany**, v. 45, p. 176-189, 1991.

ZORO BI, I.; MAQUET, A.; DEGREEF, J.; WATHELET, B.; BAUDOIN, J.P. Sample size for collecting seeds in germplasm conservation: the case of the Lima bean (Phaseolus lunatus L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p. 187-194, 1998.

Literatura Consultada

ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding.** New York: Jonh Wiley, 1960. 485 p.

BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas.** Viçosa, MG: Editora UFV, 1997. 574 p.

BORÉM, A. **Pequeno glossário de termos agronômicos.** Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 1998. 169 p.

COOMBS, J. **Dictionary of biotechnology.** New York: Elsevier, 1986. 330 p.

KENDREW, S. J. **The encyclopedia of molecular biology.** Oxford: Blackwell, 1994. 1165 p.

SCHULTZ, A. **Dicionário de botânica.** Porto Alegre: Globo, 1969. 239 p.

TORRES, A.C.; FERREIRA, A.T.; SÁ, F.G.; BUSO, J.A.; CALDAS, L.S.; NASCIMENTO, A.S.; BRÍGIDO, M.M.; ROMANO, E. **Glossário de biotecnologia vegetal.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2000. 128 p.

VALOIS, A.C.C.; SALOMAO, A.L.; ALLEM, A.C. **Glossário de recursos genéticos vegetais.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002. http: <//www.cenargen.embrapa.br/recgen/sibrargen/glossario/welcome.html>.

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

7

Cultura de Tecidos Aplicada à Conservação de Germoplasma

Sérgio Yoshimitsu Motoike
Solange Rocha Monteiro de Andrade

Introdução

Cultura de tecidos vegetais é um conjunto de técnicas nas quais as células, tecidos ou órgãos vegetais são mantidos e propagados assepticamente em meio de cultivo apropriado e condições controladas de luminosidade e temperatura (SMITH; DREW 1990; PAULS, 1995; TORRES et al., 2000). O objetivo é regenerar uma nova planta idêntica à original, ou seja, uma clonagem vegetal.

A regeneração é fundamentada na totipotência das células, ou na capacidade de proliferação organizada das células vegetais em formar tecidos e plantas completas (KERBAUY, 1997; MANTELL et al., 1994). Esse conceito foi cunhado por Schleiden, em 1838, e Schwann, em 1839 (GAUTHERET, 1983), e aplicado pela primeira vez em 1902 por Habelandt (KRIKORIAN; BERQUAM, 1969). A totipotência considera que as células vegetais manifestam, em momentos diferentes e sob estímulo apropriado, a capacidade de iniciar um novo indivíduo multicelular

idêntico à planta-mãe (TORRES et al., 2000). No entanto, parte-se de explantes, que são uma mistura de células em variado estado fisiológico, bioquímico e de desenvolvimento (MURASHIGE, 1974). Nesse caso, as células do tecido não são uniformes, apresentando variações em tamanho, grau de vacuolização, conteúdo citoplasmático, formato e características da parede celular (MURASHIGE, 1974). Assim, espera-se que a exposição de explantes a um ambiente in vitro estimule reações diversificadas nos diferentes tipos celulares, fazendo com que somente alguns respondam às condições de cultura in vitro (MANTELL et al., 1994). Essa habilidade de uma célula ou um grupo de células responder a um estímulo indutivo, visando a um processo de desenvolvimento, é denominada competência (TORRES et al., 2000).

Existem três fatores que afetam a regeneração da planta in vitro: o genótipo (espécie, cultivar ou variedade), a fonte de explantes (folha, raiz, caule, meristema, embrião) e a condição de cultivo (meio de cultura, luz, temperatura, recipiente). O sucesso da iniciação e da regeneração da cultura in vitro depende da decisão correta na definição de todos esses fatores. Na realidade, muito ainda precisa ser conhecido sobre os mecanismos hormonais vegetais e sobre os processos que controlam o desenvolvimento das plantas. A melhor via para o desenvolvimento de sistemas de regeneração in vitro continua sendo baseada em testes que levam em conta os três fatores mencionados. O objetivo desses testes é obter uma combinação ótima dos fatores para que o processo seja bem sucedido (CALDAS et al., 1998).

A escolha do genótipo a ser utilizado na cultura de tecidos vai depender dos objetivos experimentais. É interessante notar que espécies de um mesmo gênero e variedades de uma mesma espécie podem responder de maneira diferente às condições de cultivo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). No entanto, para alguns autores, todas as espécies e cultivares são capazes de responder às condições de cultura desde que

seja utilizada uma combinação correta dos demais fatores que afetam a regeneração in vitro (MANTELLl et al., 1994).

O explante também é um fator importante no sucesso da regeneração in vitro, pois, independente do sistema de cultura de tecidos escolhido, o resultado final dependerá da fonte e da qualidade do mesmo (DEBERGH, 1991; MURASHIGE, 1974). Na escolha do explante, deve-se considerar: o órgão fonte do explante; a idade fisiológica e ontogenética desse órgão; a época de obtenção; o tamanho do explante; e a qualidade da planta doadora do explante (MURSHIGE, 1974). A capacidade de regeneração depende do estádio fisiológico, da homogeneidade das células, do estado de contaminação e da maneira como o explante é cortado (DEBERGH, 1991; MURSHIGE, 1974).

O meio de cultura consiste de uma mistura de sais inorgânicos (micro e macronutrientes), substâncias orgânicas (nitrogênio reduzido, uma fonte de carbono, vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento) e complexos naturais (proteína hidrolisada, água de coco, polpa de frutas, produtos de origem animal), necessários para manter a divisão celular e a proliferação dos explantes (MURASHIGE, 1974). A combinação adequada entre esses componentes associada às demais condições da cultura como luz (intensidade, qualidade e fotoperíodo), temperatura e vasilhame da cultura (tamanho e permeabilidade a trocas gasosas) é a base da tecnologia de cultura de tecidos vegetais (KERBAUY, 1997).

Etapas e Vias de Regeneração in vitro

Os explantes, após o processo de desinfestação, são inoculados em um meio de cultura. O processo de esterilização da superfície visa desinfetar a sua superfície, visando eliminar os microrganismos como bactérias, fungos, leveduras. A contaminação dos explantes por microrganismos é um problema da cultura de tecidos, porque, além de competirem

pelos nutrientes, alguns desses microrganismos produzem toxinas que influenciam o processo de regeneração.

A regeneração pode ser via organogênese ou embriogênese somática. Na organogênese, órgãos vegetais (brotos e/ou raízes) são induzidos à diferenciação a partir de uma ou várias células, de forma direta ou indireta. Na organogênese direta, também chamada adventícia, o órgão vegetal é induzido e desenvolve-se diretamente de um explante, isto é, sem passar por uma fase inicial de calo. Na organogênese indireta, há uma fase inicial de proliferação celular e crescimento de calo, seguida por indução de brotos ou raízes e seu respectivo desenvolvimento (MANTELL et al., 1994). Calo é um grupo ou massa de células com crescimento desordenado, que podem apresentar certo grau de diferenciação (TORRES et al., 2000) .

A embriogênese somática é uma via de desenvolvimento na qual a formação de embriões é induzida a partir de células procedentes de órgãos vegetativos. Ela também pode ocorrer diretamente de um explante sem o aparecimento de calos. Entretanto, a via de embriogênese indireta, em que embriões somáticos são induzidos e desenvolvidos a partir de proliferações de calos, é a forma mais comum. Um certo período de tempo é necessário para desdiferenciar e obter competência para a via embriogênica a partir de uma cultura celular (MANTELL et al., 1994).

Uma aplicação da organogênese direta bastante utilizada é a micropropagação a partir de explantes meristemáticos. Apresenta a vantagem de as plantas se regenerarem diretamente de um tecido organizado sem a necessidade do estágio de calo. Desse modo, tem-se uma economia de tempo e diminui-se a variação somaclonal, que é associada a longos períodos de cultura de calos. Denomina-se de somaclonal a variação genética espontânea de plantas regeneradas de cultura de células ou tecidos in vitro, a qual é indesejada quando o objetivo é obter uma planta idêntica à planta matriz (MANTELL et al, 1994).

A regeneração de plantas por organogênese ou embriogênese somática, direta ou indireta, normalmente requer uma fase de aclimatação, após as plântulas serem produzidas. Essa fase envolve a exposição das plantas ao ambiente externo, com variações na umidade relativa mais baixa e variações das condições da luminosidade e temperatura. Após o crescimento sustentável nesse meio ambiente, as plântulas podem ser transferidas para casa de vegetação (MANTELL et al., 1994).

Principais Aplicações da Cultura de Tecidos

A cultura de tecidos pode ser empregada na multiplicação de plantas com propagação difícil, como, por exemplo, algumas espécies nativas do Cerrado. Outra aplicação, de grande importância, é a limpeza clonal, por meio da qual é possível, em algumas espécies, como abacaxi, citrus, morango e batata, produzir mudas livres de vírus (FERREIRA et al., 1998). Essa técnica consiste em cultivar meristemas não infectados e induzir a formação de material propagativo geneticamente idêntico aos parentais.

A cultura de tecidos também pode ser empregada de diferentes maneiras em programas de melhoramento genético vegetal. Nas espécies que apresentam problemas de dormência de sementes, pode-se utilizar a técnica de germinação in vitro. Em alguns casos, quando o desenvolvimento do fruto é um processo prolongado, pode-se utilizar a cultura de embriões imaturos para acelerar o processo de germinação.

A variabilidade genética é a base para um programa de melhoramento, normalmente é conservada em bancos de germoplasma in vivo. No entanto, em espécies que podem ser propagadas vegetativamente, a manutenção in vitro é uma alternativa menos dispendiosa que in vivo. A cultura de tecidos também contribuir para aumentar a variabilidade genética, por variação somaclonal, ou como suporte a outras tecnologias, como a introgressão de genes e a transformação genética. Finalmente, a cultura de tecidos possibilita multiplicar material genético, disponibili-

zando propágulos de genótipos para avaliação em experimentos replicados (FERREIRA et al., 1998).

Cultura de Tecidos e a Conservação de Recursos Naturais

A cultura de células e tecidos vegetais pode ser aplicada à conservação de recursos genéticos de duas formas: (1) multiplicação massal de espécies ameaçadas e (2) conservação de germoplasma in vitro.

Multiplicação massal

A multiplicação massal consiste na aplicação da cultura de tecido para implementar o processo reprodutivo de espécies ameaçadas ou em risco de extinção, seja por meio de clonagem sucessiva seja por germinação de sementes in vitro. Essa técnica é recomendada a espécies cuja propagação natural é ineficiente, ou aquelas de característica perene, cujo ciclo reprodutivo é longo. Dessa maneira, plantas com baixa germinação em ambiente natural, tais como as pertencentes às famílias Orquidaceae e Bromeliaceae, podem ter a sua germinação incrementada in vitro, alcançando taxas próximas a 100% (CARVALHO, 2002; VENTURA, 2002; FIGUEIREDO, 2004). Altas taxas de germinação in vitro possibilitam a obtenção de um maior número de plantas, o que é essencial a programas de recuperação e manejo de comunidades degradadas. Da mesma forma, a micropropagação de genótipos elite de grande interesse comercial permite a propagação em grande escala de plantas, criando alternativa para o abastecimento do mercado, seja interno ou externo, desencorajando, assim, o extrativismo predatório.

Espécies raras de ciclo reprodutivo longo, tal como *Myrciaria grandifolia* Mattos, um tipo de jaboticaba que apresenta fase juvenil de no mínimo 9 anos, podem ser multiplicadas em massa por clonagem in vitro. Esses clones podem ser utilizados em programas de reintrodução dessas espécies na natureza, assegurando assim a sua conservação.

Conservação de germoplasma in vitro

A conservação de germoplasma in vitro se aplica a espécies cujo armazenamento em bancos de sementes é impossibilitado. Constituem esse grupo de plantas as espécies produtoras de sementes recalcitrantes, espécies que não produzem sementes viáveis e clones de propagação exclusivamente vegetativa. Essas plantas são geralmente conservadas em coleções ativas ex situ ou em seu próprio habitat natural in situ. Contudo, a manutenção de coleções ativas ex situ, assim como a conservação in situ, apresentam vários problemas, incluindo o seu alto custo (necessidade de grandes áreas e consumo de mão de obra), exposição das plantas a desastres naturais e ataques de pragas e doenças. Nesses casos, a conservação in vitro constitui-se em um recurso alternativo na preservação da diversidade genética destas espécies (VILLALOBOS et al., 1991).

Conservação in vitro consiste no armazenamento de germoplasma em ambiente de cultura de tecido. Estruturas como células, tecidos, órgãos, plântulas e plantas em parte ou em sua totalidade podem ser armazenadas in vitro e posteriormente resgatadas para reposição. Nesse ambiente, o germoplasma é armazenado livre de infecções, em pequenos frascos e em salas de temperatura e luminosidade controlada (ENGELMANN, 1997; VILLALOBOS et al., 1991). O tempo de armazenamento varia em função do método aplicado, podendo ser estes por períodos curtos e intermediários, em ambientes de crescimento lento, ou, por períodos longos, por meio da criopreservação.

Conservação em ambientes de crescimento lento

A conservação por período curto ou intermediário é alcançada reduzindo-se o crescimento das vitroplantas e aumentando-se o intervalo entre os subcultivos. Algumas espécies de plantas já apresentam, naturalmente, uma característica de crescimento lento in vitro. Essas espécies podem ser conservadas por períodos intermediários, sem qualquer alteração nas condições de cultura. A jabuticabeira, por exemplo, tem

sido mantida in vitro em meio basal, no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (LCCTV), por mais de 2 anos, sem a necessidade de subcultivos frequentes. Segundo Bertrand-Desbrunais (1991), espécies de *Coffea* são assim conservadas em meio basal a 27 ºC, com frequência de subcultivos a cada 6 a 12 meses.

Entretanto, a desaceleração do crescimento para a maioria das espécies é obtida pela combinação de tratamentos, tais como redução da temperatura do ambiente de cultura, aplicação de estresse osmótico, alteração do balanço hormonal e dos componentes nutricionais do meio de cultura, supressão da respiração, aplicação de supressores de crescimento e diminuição da intensidade ou eliminação completa da luz.

Redução da temperatura do ambiente de cultura

A redução da temperatura do ambiente de cultura tem sido o método mais empregado para reduzir o crescimento de vitroplantas. Espécies de clima temperado, tais como *Fragaria* spp. (MULLIN; SCHLEGELl, 1976; JEONG et al., 1996), *Malus domestica* (NEGRI et al., 1995, 2000), *Quercus suber* (ROMANO; LOUCAO, 1999), *Olea europaea* (LAMBARDI et al., 2002), *Pyrus* spp. (OKA; NIINO, 1997) e *Prunus* sp. (DRUAT, 1985), podem ser conservadas a temperaturas entre 0 °C e 5 ºC, por períodos que variam de um a seis anos. Outras espécies, tais como *Sechium edule* (VENUTOLO, 1990), *Musa* spp. (BHAT; CHANDEL, 1993; VAN DEN HOUWE, et al., 1995), *Saccharum* spp. (TAYLOR; DUKIC, 1993), *Solanum tuberosum* (SIDDIQUI et al., 1996), *Zingiber officinales* (HUANG,1995) e *Vitis* spp. (BENELLI, 2003), são conservadas em temperaturas que variam de 10 °C a 20 °C. Entretanto, algumas espécies de clima tropical e subtropical não suportam ambientes frios, rotineiramente, utilizados para o armazenamento. Vitroplantas de mandioca brava (*Manihot utilissima*), por exemplo, definham em temperaturas inferiores a 20 ºC (ROCA et al., 1984). O mesmo ocorre com o dendezeiro (*Elaeis guineensis*), em que temperaturas inferiores a 18 ºC causam danos signi-

ficativos à vitroplanta, mesmo que o tempo de exposição seja pequeno (CORBINEAU et al., 1990). Para essas espécies, outras técnicas de redução do ritmo de crescimento in vitro devem ser empregadas.

Aplicação do estresse osmótico

O estresse osmótico pode ser induzido acrescentando-se ao meio de cultura substâncias osmoticamente ativas, tais como o manitol, sacarose e sorbitol. Essas substâncias alteram o potencial osmótico do meio de cultura, reduzindo a absorção de água e nutrientes, limitando, assim, o crescimento das vitroplantas.

O manitol é um açúcar não metabolizado de alta atividade osmótica e o mais utilizado para esse fim. Esse tem sido empregado com sucesso em diversas espécies, tais como *Musa* spp. (BHAT; CHANDEL, 1993), *Solanum tuberosum* (SIDDIQUI et al., 1996), *Zingiber officinales* (HUANG,1995), *Dioscorea alata* (BORGES et al., 2003), *Liliaceae* (XIN; XIE, 1995) e *Manihot esculenta* (MABANZA et al., 2001). Outro açúcar bastante empregado é a sacarose, o qual tem sido utilizada por Lemos et al. (2002) como fonte de carboidrato e regulador osmótico, para reduzir o crescimento de vitroplantas de *Saccharum* spp.

Alteração do balanço hormonal do meio de cultura

A redução do crescimento pode ser alcançada pela alteração do balanço hormonal do meio de cultura. Nesse sentido, Bertrand-Desbrunais et al. (1991) diminuíram a concentração de BAP para limitar o crescimento de vitroplantas de *Coffea* spp. Taylor e Dukic (1993) e Watt (2000) eliminaram completamente os reguladores de crescimento do meio de cultura para conservar *Saccharum* spp. e *Eucalyptus grandis*, respectivamente. Na Universidade Federal de Viçosa, diversas espécies de bromélias são mantidas in vitro por vários meses, em meio de cultura destituído de reguladores de crescimento. A eliminação dos reguladores de crescimento do meio de cultura pode trazer vantagens adicionais ao

sistema de conservação de germoplasma, como a redução da frequência de ocorrência de variações somaclonais.

Alteração dos componentes nutricionais do meio de cultura

A redução do crescimento de vitroplantas pode, também, ser alcançada alterando-se os componentes nutricionais do meio de cultura. Kartha et al. (1981) obtiveram sucesso em conservar vitroplantas de café em meio destituído de sacarose e com a metade da concentração de sais do meio basal, comumente, utilizado para o cultivo in vitro dessa espécie. Ko et al. (1991) obtiveram sucesso na conservação de vitroplantas de banana (*Musa* spp.) por período superior a 24 meses, com a simples substituição da sacarose por ribose. Shi et al. (2000) concluíram que a taxa de sobrevivência de vitroplantas de *Dendrobium officinales*, armazenadas em meio de cultura com a metade e um quarto da concentração dos nutrientes de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), foi superior aos obtidos em meio de cultura com força total. O mesmo foi constatado por Watt et al. (2000) e Oka e Niino (1997) com *Eucalyptus grandis* e *Pirus* spp., respectivamente.

Supressão da respiração

O crescimento de vitroplantas pode ser reduzido suprimindo-se a respiração, pela redução da quantidade de oxigênio disponível no ambiente de cultura. O método mais simples para redução da oxigenação de explantes consiste na cobertura dos mesmos, com substâncias como a parafina e o óleo mineral. Segundo Engelmann (1997), essa técnica foi inicialmente aplicada para a conservação de calos de cenoura, armazenados sob filme de parafina por cinco meses. Outra técnica bastante aplicada envolve o encapsulamento de ápices meristemáticos em alginato de cálcio, o qual tem sido empregado com sucesso na conservação de *Malus pumila* (NEGRI et al., 1995), *Eucalyptus grandis* (WATT et al., 2000), *Cedrela fissilis* (NUNES, 2003), *Cedrela odorata*, *Guazuma crinita e*

Jacaranda mimosaefolia (MARUYAMA, 1997). No LCCTV, diversas espécies de bromélias têm sido cultivadas em meio líquido estacionário. Nessas condições de baixa oxigenação, essas vitroplantas têm sido conservadas por mais de seis meses, sem a necessidade de repicagens.

Aplicação de supressores químicos de crescimento

Inibidores de crescimento têm sido utilizados em diversas espécies para o controle do crescimento de vitroplantas. Desse grupo de substâncias, o ácido abscísico é o mais empregado, sendo indispensável, por exemplo, na conservação in vitro de *Saccharum* spp. (LEMOS et al., 2002). Outra substância bastante utilizada é o paclobutrazol, o qual tem sido empregado por Guo e Li (1995) para limitar o crescimento de vitroplantas de *Actinidia deliciosa*. O mesmo tem sido testado por Oka e Niino (1997) em vitroplantas de *Pirus* spp. Além dessas substâncias, o uniconazole (OKA; NIINO 1997), o ácido acetil salicílico (VENUTOLO, 1990), o phosphon-D, a hidrazina maleica e o ácido succínico podem ser utilizados para o mesmo fim.

Diminuição da intensidade ou eliminação completa da luz

A diminuição da intensidade luminosa ou a eliminação completa da luz do ambiente de cultivo pode levar à redução do ritmo de crescimento de vitroplantas. Na maioria das vezes, esse tratamento é aplicado em combinação com outras técnicas de redução do crescimento, como exposição a baixas temperaturas. Romano e Loucao (1999) concluíram que a eliminação da luz do ambiente de cultivo era essencial para a conservação de *Quercus suber* a baixas temperaturas. Entretanto, para algumas espécies, a redução ou a eliminação da luminosidade é prejudicial. *Fragaria* spp., por exemplo, adaptam-se melhor em ambiente de conservação com luz (JEONG et al., 1996). Para muitas espécies, a eliminação da luz do ambiente de armazenamento induz o estiolamento das vitroplantas, levando, consequentemente, à perda do vigor.

Criopreservação

A conservação in vitro de germoplasma por um período longo é alcançada pela criopreservação, ou seja, pelo congelamento de material vivo (célula, tecido ou órgãos) pré-estabelecido in vitro a temperaturas próximas da do nitrogênio líquido (-196 ºC). A essa temperatura, o metabolismo celular é eficientemente paralisado e o material pode ser conservado em estado de suspensão metabólica, em condições livres de riscos de contaminação por patógenos e (ou) de variações genéticas, por longo período de tempo (BAJAJ, 1995).

Entretanto, a maior parte do material vivo empregado experimentalmente em ensaios de criopreservação é extremamente sensível a injúrias causadas pelo congelamento. Isso porque esses sistemas são ricos em água, a qual, durante o processo de congelamento, cristaliza-se formando estruturas pontiagudas que perfuram e rompem as membranas celulares (ENGELMANN, 1997). Por essa razão, as células devem ser desidratadas artificialmente, antes de serem congeladas, para se evitar os danos causados pelo congelamento da água.

A desidratação, no entanto, é uma fase crítica, uma vez que a água desempenha funções biológicas vitais às células de organismos vivos, podendo causar danos irreversíveis às membranas e proteínas, redundando em morte das células.

Como consequência da desidratação, a célula perde volume, o que leva ao congestionamento e concentração dos componentes e solutos celulares, aumentando a viscosidade e as chances de interações moleculares destrutivas. Por exemplo, proteínas e membranas intracelulares compensam a perda da água durante a desidratação, ligando-se a outras moléculas, forçando uma interação inexistente em condições normais de hidratação. Essas interações podem ocasionar mudanças irreversíveis à estrutura proteica, com consequente perda da atividade de enzimas fundamentais à manutenção da vida. Em membranas, a perda da molécula

de água de fosfolipídios leva a uma fase fluida e biologicamente ativa, seguida por gel e, finalmente, à fase hexagonal (WOLFE; BRYANT, 1999). Essa sequência contribui para a perda das funções básicas da membrana, tais como permeabilidade seletiva, compartimentalização e atividades enzimáticas correlatas, levando inclusive a fusão de organelas celulares (HOEKSTRA et al., 2001; WOLKERS et al., 2002).

Estresses causados por desidratação e congelamento podem, também, induzir a formação de radicais livres, os quais atacam moléculas de fofolipídeos, DNA e proteínas celulares. Estes radicais se acumulam nas células, induzidos pelo mau funcionamento do sistema de transporte de elétrons, dano resultante do estresse causado pela desidratação e congelamento das células (OLIVER et al., 2001).

Portanto, a técnica de criopreservação envolve uma série de etapas, muita das quais objetivando controlar as injúrias decorrentes do processo de congelamento, compreendendo o pré-cultivo, desidratação, congelamento e descongelamento (TURNER et al., 2001).

Pré-cultivo

A etapa do pré-cultivo, precedendo a desidratação, consiste na aplicação de um tratamento ao material a ser criopreservado, com objetivo de aumentar a resistência das células aos estresses resultantes da desidratação. Esses tratamentos são baseados em mecanismos fisiológicos de resistência, observados em organismos tolerantes. Esses mecanismos compreendem uma série de eventos coordenados durante a desidratação, diretamente associados à prevenção dos danos oxidativos e à manutenção da estrutura natural de macromoléculas e membranas celulares nesses organismos (HOEKSTRA et al., 2001).

Uma das estratégias de sobrevivência mais comuns adotadas por esses organismos é a acumulação de altas concentrações de açúcares antes do evento da desidratação, tais como trealose, sacarose, maltose e rafino-

se (WOLKERS et al., 2002). Esses elementos são denominados solutos compatíveis, por atuarem na proteção de estruturas e macromoléculas celulares sem interferirem na organização e na função desses componentes (HOEKSTRA et al., 2001). A proteção proporcionada pelos açúcares ocorre por: (1) substituição da molécula de água em estruturas e macromoléculas celulares, perdidas durante a desidratação e (2) vitrificação do conteúdo citoplasmático, levando à imobilização de moléculas citoplasmáticas e, consequentemente, à diminuição das interações deletérias (WOLKERS et al., 2002).

Na prática, os tratamentos de pré-cultura se resumem à utilização de meios de cultura ricos em açúcares. Destes, os mais comumente utilizados são os dissacarídeos, sendo destacado o efeito da sacarose e da trealose na proteção das células aos possíveis danos causados pela desidratação (WOLFE; BRYANT, 1999). Além dos dissacarídeos, outros elementos como monossacarídeos e poliálcools, tais como glucose, inositol, sorbitol e manitol, têm sido testados com sucesso em tratamentos de pré-cultura (SUN et al., 1994; TURNER et al., 2001; SUZUKI et al., 1998; SUZUKI et al., 1997; SARKAR; NAIK, 1998). A substância a ser empregada no pré-cultivo, assim como a dose e o tempo de exposição a ela, são específicos para cada espécie (ENGELMANN, 1997).

Desidratação

A desidratação das células é a segunda etapa da criopreservação e é indispensável ao sucesso da técnica. Essa etapa precede o congelamento e tem a função de retirar a água das células, evitando a formação de cristais de gelo no seu interior. A desidratação das células pode ser induzida pelo frio, aplicando-se a técnica do congelamento lento e controlado, ou pela aplicação da técnica de vitrificação.

A desidratação induzida pelo frio consiste no resfriamento lento e controlado da célula a uma taxa de 0,5 °C a 2 °C por minuto, até o ponto de pré-congelamento, que, em células vegetais está, geralmente, situado

em torno de -40 ºC. Esse processo causa, inicialmente, um super-resfriamento do ambiente (meio de cultura + material vegetal), o que leva a formação de gelo no ambiente extracelular. Porém, a membrana celular serve de barreira física, prevenindo a formação de gelo no ambiente intracelular. Conforme a temperatura do ambiente se reduz, gradativamente, mais solução extracelular se congela, aumentando a concentração de solutos no ambiente externo e, consequentemente, no aumento da pressão de vapor intracelular. Essa diferença de pressão é, então, compensada pela perda de água das células para o ambiente extracelular, o que leva a sua desidratação. O ideal seria que, no final desse processo, toda água livre do interior das células fosse removida, evitando, assim, a formação de cristais de gelo (ENGELMANN, 1997).

A vitrificação é a transição da água, do estado líquido, diretamente, para um estado amorfo ou vítreo e não cristalino induzido pela elevação extrema da viscosidade durante o resfriamento (FAHY et al., 1984). Na vitrificação, a água livre é removida antes da exposição do material vegetal ao frio, colocando a amostra em contato com um meio de vitrificação, ou através da secagem das amostras ao ar em câmaras de fluxo laminar.

As soluções de vitrificação são misturas complexas de substâncias crioprotetoras, as quais apresentam alta habilidade de se vitrificar (ENGELMANN, 1997). A maior parte das soluções empregadas, experimentalmente, é baseada em protocolos desenvolvidos por Sakai et al. (1990) ou Langis et al. (1989). A formulação desenvolvida por Sakai et al. (1990) consiste de 20% de glicerol, 15% de etileno glicol, 15% de polietileno glicol, 7% de DMSO e 0,5 M de sorbitol. Já a formulação desenvolvida por Langis et al. (1989) compreende 40% de etileno glicol, 15% de sorbitol e 6% de albumina.

Atualmente, técnicas de criopreservação baseadas no princípio da vitrificação são as mais utilizadas e diversificadas, por serem mais simples e baratas e por apresentarem maior índice de sucesso em diversas espécies de plantas. Engelmann (1997) apresenta uma lista de sete dife-

rentes técnicas de criopreservação que são baseados nesse princípio, com uma longa lista de espécies com os quais obteve sucesso.

Congelamento

O congelamento das amostras após o processo de desidratação é feito, geralmente, em nitrogênio líquido, a temperaturas próximas de -196 ºC. A essa temperatura, o metabolismo celular é eficientemente paralisado e o material pode ser conservado em estado de suspensão metabólica (BAJAJ, 1995). Nessa fase, a rapidez no processo de congelamento é fundamental, para assegurar o sucesso da técnica.

Descongelamento

A etapa de descongelamento é tão importante para o sucesso da criopreservação quanto as demais que foram apresentadas até o momento. Portanto, deve ser conduzida de forma criteriosa, evitando-se, ao máximo, as condições para a formação de cristais de gelo no interior das células. Segundo Karlsson (2001), processos inadequados de descongelamento causam, na maioria das vezes, danos às células e tecidos. Supõe-se que essas injúrias sejam resultantes do processo de desvitrificação do conteúdo citosólico, levando à formação e ao crescimento de cristais de gelo no interior das células. A maioria dos protocolos de descongelamento adotados experimentalmente em trabalhos de criopreservação é baseada no descongelamento rápido, por meio da imersão das amostras congeladas em banho-maria, mantidas a 40 ºC. Segundo Engelmann (1997), com o descongelamento rápido, não há tempo hábil para a formação de cristais de gelo, redundando em maior sobrevivência de espécimes criopreservados. Entretanto, outros métodos de descongelamento podem ser utilizados. Por exemplo, Dumet et al. (2002) utilizaram o descongelamento em solução de 0,7 M de sacarose. Segundo esses autores, o índice de sobrevivência nesse método foi superior aos obtidos pelo método do descongelamento rápido.

Problemas da Conservação in vitro e Perspectivas para o Futuro

Apesar de a utilidade da técnica de conservação de germoplasma in vitro ser indiscutível, principalmente, para espécies tropicais com sementes recalcitrantes, é necessário salientar que esse método ainda apresenta imperfeições, inviabilizando a sua aplicação em grande escala. Entre os problemas do método, destacam-se a pressão de seleção exercida pelo ambiente de cultivo, garantia de estabilidade genética do material preservado e a falta de protocolos definidos que garantam alta percentagem de recuperação de plantas.

A pressão de seleção se verifica quando determinado genótipo responde melhor às condições de cultivo in vitro do que outros que compõe a diversidade da espécie. No LCCTV, observou-se, por exemplo, que somente 10% de plantas de *Orthophytum grossiorum*, obtidas por sementes originárias de um mesmo fruto, multiplicavam-se, prontamente, em meio de cultivo contendo BAP. As demais plantas (genótipos) apresentaram crescimento e multiplicação lenta ou não se multiplicaram no tempo em que foram monitorados. Dessa maneira, genótipos que se adaptam melhor às condições de cultivo in vitro apresentam vantagens em relação aos demais, induzindo-se ao risco de seleção e à perda da variabilidade genética.

Garantia da estabilidade genética é outro problema da cultura de tecidos de plantas. O ambiente in vitro é conhecido por induzir mutações às células, que são denominadas variações somaclonais (SKIRVIN et al., 2000). Essas mutações podem ser induzidas pelos componentes do meio de cultura, por exemplo, reguladores de crescimento, que são frequentemente empregados no cultivo de plantas in vitro. Por essa razão, o desenvolvimento de técnicas que reduzem a frequência de ocorrência de variações somaclonais é urgente, para a aplicação segura desse método de conservação.

Finalmente, o cultivo de células e tecidos vegetais tem sido aplicado com sucesso a diversas plantas domesticadas, porém esses protocolos são altamente específicos e não funcionam em outras espécies. Sendo assim, a ampla aplicabilidade do método depende do desenvolvimento de novos protocolos. A inexistência de protocolos desenvolvidos para o estabelecimento da maioria das espécies de clima tropical, especialmente, o da flora silvestre, constitui-se num gargalo para a aplicação em grande escala desse método de conservação de germoplasma.

Referências

BAJAJ, Y. P. S. Cryopreservation of plant cell, tissue, organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. **Biotechnology in agriculture and forestry**, v. 32, p. 3-47. 1995.

BENELLI, C.; LAMBARDI, M.; FABBRI, A. Low temperature storage and cryopreservation of the grape rootstock "Kober 5BB". **Acta Horticulturae**, v. 623, p. 249-253, 2003.

BERTRAND-DESBRUNAIS, A. **La conservation des ressouces génétiques des caféiers**. 1991. 259 p. Tese (Doutorado). Université Paris, Paris.

BHAT, S. R.; CHANDEL, K. P. S. In vitro conservation of *Musa* germplasm: effects of mannitol and temperature on growth and storage. **Journal of Horticultural Science**, v. 68, p. 841-846, 1993.

BORGES, M.; MENESES, S.; VAZQUEZ, J.; GARCIA, M.; AGUILERA, N.; INFANTE, Z.; RODRIGUEZ, A.; FONSECA, M. In vitro conservation of *Dioscorea alata* L. germplasm by slow growth. **Plant Genetic Resources Newsletter**, v. 133, p. 8-12, 2003.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa SPI: Embrapa CNPH, 1998. v.1, p. 87-132.

CARVALHO, V. S. **Morfogênese *in vitro* em orquídeas do grupo *Cattleya***. 2002. 164 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CORBINEAU, F.; ENGELMANN, F.; CÔME, D. Ethylene production as indicator of chilling injury in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Plant Science**, v. 71, p. 29-34, 1990.

DEBERGH, P. Acclimatization techniques of plants from in vitro. **Acta Horticulturae**, v. 289, p. 291-300, 1991.

DRUART, P. *In vitro* germplasm preservation technique for fruit trees. In: SCHÄFER-MENUHR, A. (Ed.). ***In vitro* Techniques-propagation and long-term storage**. Dordrecht: Nijhoff: Junk for CEC, 1985. p. 167-171.

DUMET, D.; GRAPIN, A.; BAILLY, C.; DORION, N. Revisiting crucial steps of an encapsulation/desiccation based cryopreservation process: importance of thawing method in the case of *Pelargonium* meristems. **Plant Science**, v. 163, p. 1121-1127, 2002.

ENGELMANN, F. *In vitro* conservation Methods. In: CALLOW J. A.; FORD-LLOYD, B. V.; NEWBURY H. J. (Ed.). **Biotechnology and plant genetic resources**. Rome: CAB International, 1997. p. 119-161.

FAHY, G. M; MCFARLANE, D. R.; ANGELL, C. A.; MERYMAN, H. T. Vitrification as an approach to cryopreservation. **Cryobiology**, v. 21, p. 407-426, 1984.

FERREIRA, M. A.; CALDAS, L. S.; PEREIRA, E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa SPI: Embrapa CNPH, 1998. v. 1, p. 21-43.

FIGUEIREDO, M. L. **Desenvolvimento de protocolos para propagação *in vitro* de três espécies de Bromeliaceae nativas do Brasil**. 2004. 57 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GAUTHERET, R. Plant tissue culture: a history. **Journal of Plant Research**, v. 96, p. 393-410, 1983.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA: CBAB, 1998. p.183-260.

GUO, Y. P.; LI, J. R. Studies of in vitro conservation of kiwi germplasm. **Journal of Fruit Science**, v. 12, p. 84-87, 1995.

HOEKSTRA, F.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 6, p. 431-438, 2001.

HUANG, J. H. In vitro propagation and preservation of ginger germplasm resources. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 28, p. 24-30, 1995.

JEONG, H. B.; HA, S. H.; KANG, K. Y. In vitro preservation method of culturing shoot tip at low temperature in strawberry. **RDA Journal of Agricultural Science, Biotechnology**, v. 38, p. 284-289, 1996.

KARLSSON, J. O. M. A theoretical model of intracellular devitrification. **Cryobiology**, v. 42, p. 154-169, 2001.

KARTHA, K. K.; MROGINSKI, L. A.; PAHL, K.; LEUNG, N. L. Germplasm preservation of coffee (*Coffea Arabica* L.) by *in vitro* culture of shoot apical meristems. **Plant Science Letters**, v. 22, p. 301-307, 1981.

KERBAUY, G. B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia:** ciência e desenvolvimento, v. 1, n. 1, p. 30-33, maio 1997.

KO, W. H.; HWANG, S. C.; KU, F. M. New technique for storage of meristem-tip cultures of "Cavendish" banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 25, p. 179-183, 1991.

KRIKORIAN, A; BERQUAM, D. Plant cell and tissue cultures: the role of Haberlandt. **The Botanical Review**, v. 35, p. 59-67, 1969.

LAMBARDI, M.; BENELLI, C.; CARLO, A. DE; FABBRI, A.; GRASSI, S.; LYNCH, P. T. Médium– and long-term in vitro conservation of olive germplasm (*Olea europaea* L.). **Acta Horticulturae**, v. 586, p. 109-112, 2002.

LANGIS, R.; SCHNABEL-PREIKSTAS, B.; EARLE, E. D.; STEPONKUS, P. L. Cryopreservation of *Brassica campestris* L. suspensions by vitrification. **Cryoletters**, v. 10, p. 421-428, 1989.

LEMOS, E. E. P. DE; FERREIRA, M. DE S.; ALENCAR, L. M. C. DE; RAMALHO NETO, C. E.; ALBUQUERQUE, M. M. de Conservação in vitro de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 1359-1364, 2002.

MABANZA, J.; OTABO, F. R.; MOUSSOUAMI, C. In vitro conservation of African cassava germplasm cultivars (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant Genetic Resources Newsletter**, v. 125, p. 29-32, 2001.

MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J. A. MCKEE, R. A. Técnicas de cultura de tecidos. In: MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J. A.; MCKEE, R. A. **Princípios de biotecnologia em plantas**: uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994. p. 101-181.

MARUYAMA, E.; KINOSHITA, I.; ISHII, K.; OHBA, K.; SAITO, A. Germplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart.,

and Jacaranda mimosaefolia D. Don., by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25°C. **Plant Cell Reports**, v. 16, p. 393-396, 1997.

MULLIN, R. I. I.; SCHLEGEL, D. E. Cold storage maintenance of strawberry meristem plantlets. **Horticultural Science**, v. 11, p. 100-101, 1976.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NEGRI, V.; HAMMAD, A. H. A.; STANDARDI, A. A space saving storage for in vitro cultures of apple germplasm. **Journal of Genetics and Breeding**, v. 49, p. 127-131, 1995.

NEGRI, V.; TOSTI, N.; STANDARDI, A. Slow-growth storage of single shoots of apple genotype. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 62, p. 159-162, 2000.

NUNES, E. da C.; BENSON, E. E.; OLTRAMARI, A. C.; ARAUJO, P. S.; MOSER, J. R. VIANA, A. M. In vitro conservation of Cedrela fissilis Vellozo (*Meliaceae*), a native tree of the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v. 12, p. 837-848, 2003.

OKA, S.; NIINO, T. Long term storage of pear (*Pyrus* spp.) shoot cultures in vitro by minimal growth method. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 31, p. 1-7, 1997.

OLIVER, A. E.; OLIVIER, L.; WOLKERS, W. F.; HINCHA, D. K.; HEYER, A. G.; CROWE, J. H. Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. **Cryobiology**, v. 43, p. 151-167, 2001.

PAULS, K. P. Plant biotechnology for crop improvement. **Biotechnology Advances**, v. 13, p. 673-693, 1995.

ROCA, W.; REYES, M. R.; BELTRAN, J. Effect of various factors on minimal growth in tissue culture storage of cassava germplasm. In: SYMPOSIUM OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR TROPICAL ROOT CROPS, 6., 1984, Lima. **Proceedings**... 1984. p. 441-446.

ROMANO, A.; LOUCAO, M. A. M. In vitro cold storage of cork oak shoot cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 59, p. 155-157, 1999.

SAKAI, A.; KOBAYASHI, S.; OIYAMA, I. Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. Var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification. **Plant Cell Reports**, v. 9, p. 30-33, 1990.

SARKAR, D.; NAIK, P. S. Cryopreservation of shoot tips of tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) clones by vitrification. **Annals of Botany**, v. 82, p. 455-461, 1998.

SHI, Y. Z.; PAN, R. C.; WANG, X. J.; YE, Q. S.; GUO, L. R. In vitro conservation of *Dendrobium officinale* at low temperature. **Chinese Journal of Applied and Environmental Biology**, v. 6, 326-330, 2000.

SIDDIQUI, S. U., CHAUDHARY, M. F.; ANWAR, R. Studies on the in vitro conservation of potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm in Pakistan. **Plant Genetic Resources Newsletter**, v. 107, p. 28-30, 1996.

SKIRVIN, R. M.; COYNER, M.; NORTON, M. A.; MOTOIKE, S.; GORVIN, D. Somaclonal variation: do we know what causes it? **AgBiotechNet**, v. 2, p. 1-4, 2000.

SMITH, M. K.; DREW, R. A. Current applications of tissue culture in plant propagation and improvement. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 267-289, 1990.

SUN, W. Q.; IRVING, T. C.; LEOPOLD, A. C. The role of sugar, vitrification and membrane phase transition in seed desiccation tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 90, p. 621-628, 1994.

SUZUKI, M.; ISHIKAWA, M.; AKIHAMA, T. A novel preculture method for the induction of desiccation tolerance in gentian axillary buds for cryopreservation. **Plant Science**, v. 135, p. 69-76, 1998.

SUZUKI, T.; KANEKO, M.; HARADA, T. Increase in freezing resistance of excised shoot tips of *Asparagus officinalis* L. by preculture on sugar-rich media. **Cryobiology**, v. 34. p. 264-275, 1997.

TAYLOR, P. W. J.; DUKIC, S. Development of an in vitro culture technique for conservation of *Saccharum* spp. hybrid germplasm. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 34, p. 217-222, 1993.

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, F. G.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M. M.; ROMANO, E. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2000. 128 p.

TURNER, S. R.; SENARATNA, T.; BUNN, E.; TAN, B.; DIXON, K. W. Cryopreservation of shoot tips from six endangered australian species using a modified vitrification protocol. **Annals of Botany**, v. 87, p. 371-378. 2001.

VAN DEN HOUWE, I.; SMET, K. DE; TEZENAS, DU MONTCEL, H.; SWENNEN, R. Variability in storage potencial of banana shoot cultures under medium term storage conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 42, p. 269-274, 1995.

VENTURA, G. M. **Propagação *in vitro* de orquídeas do grupo *Cattleya***. 2002. 147 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

VENUTOLO, S. A. **Micropropagation and study of some options for germplasm conservation of chayote (Sechium edule Jacq. Sw.) in vitro**. 1990. 146 f. Tese (Doutorado). Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Ensenanza, Turrialba.

VILLALOBOS, V. M.; FERREIRA, P.; MORA, A. The use of biotechnology in the conservation of tropical germplasm. **Biotechnology Advances**, v. 9, p. 197-215, 1991.

WATT, M. P.; THOKOANE, N. L.; MYCOCK, D.; BLAKEWAY, F. In vitro storage of Eucalyptus grandis germplasm under minimal growth conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. v. 61, p. 161-164, 2000.

WOLFE, J.; BRYANT, G. Freezing, drying, and/or vitrification of membrane solute-water systems. **Cryobiology**, v. 39, p. 103-129, 1999.

WOLKERS, W. F.; TABLIN, F.; CROWE, J. H. From anhydrobiosis to freeze-drying of eukaryotic cells. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 131, p. 535-543, 2002.

XIN, S. Y.; XIE, S. Effect of mannitol concentration on the in vitro conservation of lily germplasm. **Crop Genetic Resources**, v. 3, p. 50-52, 1995.

8

Espécies Olerícolas

Sabrina Isabel C. de Carvalho
Patrícia Silva Ritschel

O que São Espécies Olerícolas

As hortaliças, popularmente conhecidas como verduras ou legumes, são tecnicamente denominadas de espécies olerícolas ou oleráceas e se caracterizam pela natureza herbácea, apresentando consistência tenra e não lenhosa, e, salvo poucas exceções, ciclo anual ou bienal. São exigentes em tratos culturais intensivos e seu cultivo é realizado em áreas pequenas. A olericultura, termo derivado do latim (*oleris*, hortaliça, e *colere*, cultivar), é o ramo da horticultura que trata do estudo da produção das hortaliças (FILGUEIRA, 2000). As oleráceas englobam quase uma centena de espécies em todo o mundo; no Brasil, são cultivadas cerca de 60 espécies (Tabela 1).

Tabela 1. Características de algumas das principais hortaliças cultivadas no Brasil.

Nome popular	Nome científico	Família botânica	Origem	Exigência termoclimática	Ciclo	Forma de reprodução
abóbora rasteira	*Curcubita moschata*	Cucurbitáceas	América do Norte/ Central/Sul	quente	A	alógama
abobrinha-italiana	*Curcubita pepo*	Cucurbitáceas	América do Norte/ Central/Sul	amena	A	alógama
alface	*Lactuca sativa*	Asterácea (composta)	África	amena	A	autógama
alho	*Allium sativum*	Aliácea (amarilidácea)	Ásia	fria	A	vegetativa
aspargo	*Asparagus officinalis*	Liliácea	Mediterrâneo/Ásia Menor	ampla	P	vegetativa
batata	*Solanum tuberosum* ssp.	Solanácea	América do Sul	amena/fria	–	vegetativa*
batata-doce	*Ipomoea batatas*	Convolvulaceae	América do Norte/ Central/Sul	quente	A	vegetativa*
berinjela	*Solanum melongena*	Solanácea	Índia	quente/amena	A	autógama
beterraba	*Beta vulgaris*	Quenopodiácea	Mediterrâneo/África/Ásia	amena/fria	B	alógama
cará	*Dioscorea alata*	Dioscoreácea	Filipinas	quente	A	vegetativa
cebola	*Allium cepa*	Aliácea (amarilidácea)	Paquistão/Irã	ampla	B	alógama
cebolinha	*Allium scoenoprasum*	Aliácea (amarilidácea)	-	amena/fria	B	alógama
cenoura	*Daucus carota*	Apiácea (umbelífera)	Ásia/Merditerrâneo	fria/quente	B	alógama
chuchu	*Sechium edule*	Cucurbitáceas	América do Norte/ Central/Sul	amena	P	alógama
coentro	*Coriandrum sativum*	Apiácea (umbelífera)	Oriente Médio	quente	B	alógama
couve-brócolos	*Brassica oleracea* var. *italica*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	amena	B	alógama

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Nome popular	Nome científico	Família botânica	Origem	Exigência termoclimática	Ciclo	Forma de reprodução
couve-de-bruxelas	*Brassica oleracea* var. *gemmifera*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	inverno	B	alógama
couve-flor	*Brassica oleracea* var. *botrytis*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	ampla	B	alógama
couve-manteiga	*Brassica oleracea* var. *acephala*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	fria/amena	B	vegetativa**
ervilha	*Pisum sativum*	Fabácea (leguminosa)	Oriente Médio/Medit	amena	A	autógama
espinafre verdadeiro	*Spinacia oleracea*	Quenopodiácea	Ásia	amena/fria	B	alógama
feijão-de-corda	*Vigna unguiculata*	Fabácea (leguminosa)	África	quente	A	autógama
feijão-de-fava	*Phaseolus vulgaris*	Fabácea (leguminosa)	América do Sul/Central	amena/quente	A	autógama
feijão-de-lima	*Phaseolus lunatus*	Fabácea (leguminosa)	América do Sul/Central	quente	A	autógama
inhame	*Colocasia esculenta*	Arácea	África	quente	–	vegetativa
jiló	*Solanum gilo*	Solanácea	África	quente	A	autógama
mandioquinha-salsa	*Aracacia xanthorrhiza*	Apiácea (umbelífera)	América do Sul	fria	B	vegetativa
maxixe	*Cucumis anguria*	Cucurbitáceas	África	quente	A	alógama
melancia	*Citrullus lanatus*	Cucurbitáceas	África	quente	A	alógama
melão	*Cucumis melo*	Cucurbitáceas	África	quente	A	alógama
milho-doce	*Zea mays*	Poácea (gramíneas)	América Norte/Central/Sul	quente	A	alógama
milho-verde	*Zea mays*	Poácea (gramíneas)	América Norte/Central/Sul	quente	A	alógama
moranga	*Cucurbita maxima*	Cucurbitáceas	América do Norte/Central/Sul	quente	A	alógama

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Nome popular	Nome científico	Família botânica	Origem	Exigência termoclimática	Ciclo	Forma de reprodução
morango	*Fragaria* X *ananassa*	Rosácea	Europa	fria		vegetativa
pepino	*Cucumis sativus*	Cucurbitáceas	Índia/Ásia	quente	A	alógama
pimentão	*Capsicum annuum*	Solanácea	América Norte/Central/ Sul	amena/quente	A	autógama
pimentas	*Capsicum frutescens*	Solanácea	América Norte/Central/ Sul	quente	A	autógama
quiabo	*Abelmoschus esculentus*	Malvácea	África	quente	A	autógama
rabanete	*Raphanus sativus*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	fria	B	alógama
repolho	*Brassica oleracea* var. *capitata*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	amena	B	alógama
rúcula	*Eruca sativa*	Brassicácea (crucífera)	Ásia/Mediterrâneo	fria	B	alógama
salsa	*Petroselium crispum*	Apiácea (umbelífera)	Ásia Menor	quente	B	alógama
tomate	*Lycopersicon esculentum*	Solanácea	América do sul	amena/fria	A	autógama

*Fonte: extraído de Filgueira (2000), Basset (1986) e Borém (1997).
**Também produzem sementes por polinização cruzada (alógamas).

As hortaliças mais consumidas atualmente se originaram e foram introduzidas em várias partes do globo, facilitando sua disseminação (FILGUEIRA, 2000). Esse intercâmbio vem acontecendo quase paralelamente aos primórdios da agricultura e atualmente é contínuo, dando origem a uma variedade enorme de hortaliças, que diferem em vários aspectos, tais como a parte consumida, as exigências climáticas, a forma de propagação, etc. A descoberta das américas constituiu um marco importante para o desenvolvimento da agricultura mundial, inclusive da olericultura. Imediatamente, houve um intercâmbio intenso de oleráceas. Milho, tomate, batata, abóbora e batata-doce, entre outras foram introduzidas no Velho Continente; por sua vez, brássicas, alface, melão, cebola e alho foram trazidos para o Novo Continente (BASSET, 1986) (Tabela 1).

As hortaliças podem ser classificadas de várias maneiras, dependendo do objetivo do agrupamento (FILGUEIRA, 2000). É possível classificar as hortaliças com respeito a sua exigência termoclimática e também com respeito ao efeito da termoperiodicidade estacional. Assim, existem hortaliças de clima quente, de clima ameno e de clima frio. Algumas hortaliças não apresentam exigências de baixas temperaturas para passar da fase vegetativa para a fase reprodutiva, sendo denominadas anuais (p. ex.: alface). Outras necessitam de um período frio para que essa transformação ocorra e são chamadas bienais (p. ex.: cenoura e brássicas). Existem ainda hortaliças que se comportam como plantas perenes, podendo ocupar o terreno por anos, sobrevivendo às quatro estações do ano (p. ex.: aspargo). O conhecimento da forma de propagação (propagação sexuada ou propagação vegetativa) e da biologia floral (plantas alógamas ou autógamas) também pode ser utilizado para agrupar as diversas hortaliças (BORÉM, 1997). Muitas dessas características utilizadas para classificar as hortaliças constituem aspectos fundamentais que devem ser considerados quando se deseja conservar e caracterizar esse germoplasma.

Para os estudiosos da olericultura, a maneira mais adequada de classificação das hortaliças é a classificação botânica (FILGUEIRA, 2000).

As oleráceas são plantas com sementes (divisão espermatófita), originadas em ovário (subdivisão magnoliofitina) e que podem apresentar um cotilédone (classe liliata) ou dois (classe magnoliata). Normalmente, as oleráceas são agrupadas em famílias botânicas (Tabela 1). Uma espécie botânica é referida utilizando-se o nome do gênero seguido do nome da espécie, conforme o sistema binário clássico, estabelecido por Lineu. Algumas espécies apresentam populações de plantas que se distinguem por características morfológicas extraordinárias, o que permite sua subdivisão em variedades botânicas. Características agronômicas também podem distinguir uma população de plantas dentro de uma espécie que é então referida como uma 'cultivar'. Quatro tipos de grupos podem formar uma cultivar: os clones, as linhagens, as cultivares de polinização aberta e os híbridos. Assim, para se identificar adequadamente uma hortaliça, deve-se fazer referência à sua espécie, variedade botânica e cultivar. Por exemplo, para se referir à couve-brócolos do tipo ramoso, desenvolvido em conjunto pela Embrapa Hortaliças e a Universidade Estadual Paulista (Unesp) – Campus de Botucatu, deve-se dizer *Brassica oleracea* var. itálica cv. Ramoso de Brasília.

Por que Conservar o Germoplasma

A olericultura, assim como a agricultura atual, é extremamente dinâmica e frequentemente enfrenta novos desafios, como modificações nos hábitos de consumidor, preferências industriais ou práticas culturais; surgimento de novas doenças, pragas e estresses abióticos; e ainda o desbravamento da fronteira agrícola, com a colonização de novos ambientes. Uma forma eficiente de responder a esses desafios é o desenvolvimento de cultivares com características agronômicas que permitam sua adaptação a essas novas condições. Várias técnicas clássicas de melhoramento de plantas, tais como a introdução de plantas e a seleção, vêm sendo utilizadas com esse objetivo, desde os primórdios da agricultura (ALLARD,

1971). Atualmente, estão disponíveis métodos moleculares, baseados na tecnologia genômica, como a seleção assistida por marcadores moleculares (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995). Qualquer que seja o método de melhoramento utilizado, convencional ou molecular, sempre há o pressuposto de que exista variação ou variabilidade genética nas populações trabalhadas. Mesmo durante o procedimento de introdução de plantas, considerado a forma mais direta de melhoramento de plantas, pode ser necessária a seleção de plantas mais adaptadas ao novo ambiente, tornando-se imprescindível a existência de variabilidade genética no material introduzido. A variabilidade genética, base do sucesso do melhoramento genético de plantas, é encontrada em regiões inicialmente identificadas por Vavilov e denominadas de centros de origem ou centros de diversidade das espécies (BORÉM, 1997).

Em contraste, uma das exigências e realidade da agricultura intensiva moderna é a uniformidade. Porém quando uma cultivar é plantada com sucesso em uma determinada região, a tendência natural é que todas as culturas posteriores sejam realizadas com esse novo material. Dessa forma, cultivos primitivos ou cultivares tradicionais são abandonados e perdidos, juntamente com sua grande variabilidade genética característica. Práticas culturais modernas como a irrigação, adubação e colheita mecânica exigem uniformidade no ciclo da cultura, de maneira que todas as plantas atinjam uma determinada fase de desenvolvimento e sejam colhidas ao mesmo tempo (BORÉM, 1997). Assim, a diversidade genética dos cultivos olerícolas, assim como em outras espécies agrícolas, vem diminuindo com a modernização da agricultura, sofrendo o processo denominado de 'erosão genética'. A vulnerabilidade genética a que a humanidade fica exposta com a perda de variabilidade pode ser exemplificada com alguns acontecimentos de interesse histórico, como a epidemia da requeima da batata, causada por *Phytophthora infestans*, que dizimou as lavouras da Irlanda no século 19 e provocou a migração dos irlandeses para a América (ALLARD, 1971). No Brasil, existem vários exemplos da importância da variabilidade genética e do melhoramento

de plantas para o desenvolvimento da agricultura; entre eles, podemos citar o desenvolvimento da cultivar de cenoura 'Brasília' (VIEIRA et al., 1983). Até meados dos anos 1980, a cenoura era quase exclusivamente cultivada na época de inverno. As cultivares europeias, preferidas pelos consumidores nacionais por apresentar raízes cilíndricas, também eram susceptíveis à doença denominada queima-das-folhas. Essa doença é causada por um complexo fitopatogênico envolvendo dois fungos e uma bactéria e ocorre predominantemente na época quente e úmida. Por sua vez, cultivares japonesas, que possuem maior resistência à queima-das-folhas, apresentam raízes com formato cônico. A cultivar de cenoura 'Brasília' foi desenvolvida a partir de germoplasma coletado no sul do Brasil e reúne formato cilíndrico de raiz e resistência à queima-das-folhas. O desenvolvimento dessa cultivar possibilitou a produção de cenoura no verão brasileiro, com consequente estabilização da produção e dos preços dessa hortaliça ao longo do ano. Além disso, permitiu a incorporação de novos ambientes, como os de clima quente, à cadeia produtiva da cenoura, como a cidade de Irecê, na Bahia. Assim, pelo que foi exposto, observa-se a enorme importância da variabilidade genética para o melhoramento de plantas. Logo, faz-se necessário 'proteger' os recursos genéticos para uso futuro no melhoramento de plantas, o que se faz por meio de práticas de coleta de germoplasma, especialmente nos centro de diversidade e de conservação desse recurso genético (PLUCKNET et al., 1992).

Como se Realiza a Conservação

A conservação do germoplasma de espécies olerícolas é realizada sob a forma ex situ, na qual a conservação de componentes da diversidade biológica é realizada fora de seu habitat (CONSERVATION, 1992). Na conservação ex situ, a variabilidade genética é reunida por meio de expedições de coleta ou de introduções e mantida em coleções de germoplasma, que podem ser armazenadas na forma de sementes, plantas, estacas, pólen, embriões, tecidos, células, DNA ou seus fragmentos. Amostras ou

acessos mantidos nessas coleções devem ser representantes da variação genética da população original (PUIGNAU, 1996). As unidades organizacionais que têm como objetivo a conservação, o manejo e a utilização da variabilidade genética são denominadas de Bancos de Germoplasma (ENGLES, 2002).

Para a escolha da melhor forma de conservação, é essencial conhecer as características das sementes de cada espécie que será armazenada. As sementes são classificadas em ortodoxas quando podem ser desidratadas a baixos graus de umidade, entre 4% a 8%, e armazenadas em longo prazo a temperaturas subzero, em torno de -18 °C, sem causar danos fisiológicos. Por sua vez, as sementes recalcitrantes não podem ser conservadas a temperatura subzero e tampouco secadas em razão do alto teor de água que possuem na maturação. Já as sementes intermediárias só suportam baixas temperaturas quando desidratadas em torno de 10% de umidade (PUIGNAU, 1996). Existem basicamente três formas de conservação ex situ, dependendo das características reprodutivas do germoplasma que se queira conservar, quais sejam (VALOIS et al., 2001):

a. Conservação na forma de sementes, para espécies que produzem sementes ortodoxas e são de propagação sexuada.

b. Conservação in vitro, para plantas de propagação vegetativa e (ou) que produzam sementes recalcitrantes ou intermediárias.

c. Conservação in vivo, a campo, para as espécies produtoras de sementes recalcitrantes ou intermediárias, de propagação vegetativa ou perenes.

As espécies olerícolas são classificadas como sementes ortodoxas e a maioria do germoplasma dessas espécies está sendo conservada em curto, médio e longo prazos em coleções e bancos de germoplasma.

Na conservação em curto prazo, sementes ou plantas olerícolas geralmente pertencentes a "Coleção de Trabalho" que estão diretamente

ligadas a um programa de melhoramento genético são mantidas em câmara frigoríficas ou a campo, sendo de uso e responsabilidade do melhorista (PUIGNAU, 1996; VALOIS et al., 2001).

A conservação em curto/médio prazo, denominada "Coleção Ativa", mantém acessos em ambientes com temperatura acima de 0 °C e abaixo de 15 °C e umidade da semente entre 3% a 7%. É realizada pelo sistema da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) por meio dos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs), localizados em sua maioria nas unidades de pesquisa da empresa. Os objetivos dos BAGs são realizar a multiplicação inicial e a caracterização ou avaliação de acessos para atender programas de pesquisa, bem como demandas de intercâmbio (PUIGNAU, 1996; VALOIS et al., 2001; FAIAD et al., 2001).

A conservação de sementes em longo prazo é realizada no sistema brasileiro de conservação pelo Banco Base de Germoplasma da Embrapa, localizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e denominada Coleção de Base (Colbase). Essa coleção utiliza a frigorificação com temperatura variando de -18 °C a -20 °C e umidade da semente de 3% a 7%, dependendo da espécie. A Colbase constitui a principal fonte de variabilidade genética para a espécie de interesse. Apesar de não se prestar para atender as rotinas de intercâmbio, permite que acessos sejam liberados para a substituição de amostras em outras coleções ou mesmo para os procedimentos de regeneração (PUIGNAU, 1996; VALOIS et al., 2001; FAIAD et al., 2001).

Na conservação de germoplasma em longo prazo, recomenda-se um número entre 1.500 a 2.000 sementes para as amostras de populações autógamas e geneticamente homogêneas. Para as plantas alógamas, embora se reconheça a necessidade de utilização de um maior número de sementes, ainda existe carência das pesquisas para compor um acesso representativo (PUIGNAU, 1996).

A conservação in vitro corresponde à forma de conservação de células, órgãos e tecidos em meio de cultura de crescimento mínimo. É

indicada para as espécies de sementes recalcitrantes, de propagação vegetativa e também para as espécies que, apesar de produzirem sementes ortodoxas, são propagadas por via vegetativa, para que mantenham características desejáveis que pudessem desaparecer com a segregação via semente sexual, como ocorre na batata (*Solanum tuberosum*) e batata-doce (*Ipomea batatas*) (VALOIS et al., 2001).

No que diz respeito à conservação a campo ou in vivo das espécies olerícolas, tem sido utilizada principalmente para as de propagação vegetativa, como, por exemplo: alho (*Allium sativum*), mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*), batata (*Solanum tuberosum*) e batata-doce (*Ipomea batatas*).

As coleções de germoplasma olerícolas vêm sendo formadas ao longo dos anos mediante expedições de coletas e intercâmbio de germoplasma com diversos países. Essas coleções têm servido como base genética para os cruzamentos e seleções necessárias ao desenvolvimento de novas combinações dentro das atividades do programa de melhoramento genético particular de cada espécie.

Aspectos Importantes do Manejo de Bancos de Germoplasma de Olerícolas

Como as hortaliças constituem um grupo bastante diverso de plantas, existem aspectos variados a se considerar na realização da conservação adequada do seu germoplasma, como o centro de diversidade da espécie e sua forma de propagação. Espécies que apresentam grande variabilidade em território brasileiro devem ser coletadas e mantidas por instituições nacionais de pesquisa. A variabilidade de espécies não nativas, que apresentam interesse estratégico, deve ser introduzida por meio de intercâmbio internacional. Sua conservação é realizada para apoiar programas de melhoramento, visando sua adaptação e atendimento das necessidades dos produtores e (ou) consumidores. O manejo de bancos

de germoplasma de espécies que apresentam diferentes formas de propagação, como a batata-doce (propagação vegetativa) e as pimentas (autógamas), enfrenta desafios diversos, como pode ser observado nos exemplos práticos apresentados a seguir.

Desafios enfrentados e soluções para o manejo do banco de germoplasma de hortaliças de propagação vegetativa: o exemplo da batata-doce

O Banco de Germoplasma de batata-doce foi reunido por meio de expedições de coleta e pela incorporação de várias coleções regionais. Em 1999, eram mantidos 570 acessos dessa hortaliça (RITSCHEL et al., 1999a; RITSCHEL, 1999b). Algumas cultivares de batata-doce lançadas pela Embrapa Hortaliças, como Brazlândia Roxa, B. Branca, B. Rosada, Coquinho e Princesa, foram selecionadas a partir dos recursos genéticos mantidos nesse banco (MIRANDA, 1987).

A conservação de recursos genéticos de plantas de propagação vegetativa como a batata-doce apresenta dois problemas principais: os riscos da manutenção exclusivamente a campo e o desconhecimento sobre o número de acessos duplicados presentes na coleção (RITSCHEL et al., 1999c).

Na manutenção da coleção de germoplasma de batata-doce exclusivamente a campo, a degenerescência por viroses e pelo mal-do-pé (doença causada pelo fungo *Plenodomus destruens*) expõe materiais mais susceptíveis ao risco de perda. Existem alternativas para a conservação de germoplasma de batata-doce, como a conservação in vitro e por meio de sementes botânicas, cuja utilização integrada é recomendada (SWEET POTATO PLANNING CONFERENCE, 1987). Para escolha do tipo mais adequado de conservação, deve-se considerar a demanda pelo acesso e o objetivo de sua conservação. A conservação in vivo pode ser utilizada no caso de materiais demandados em âmbito local e que

não apresentem problemas fitossanitários. A conservação in vitro tem sido recomendada para preservar combinações únicas de genes livres de doenças (materiais muito demandados para intercâmbio internacional ou que apresentem susceptibilidade a doenças). A conservação na forma de sementes botânicas deve ser utilizada para preservação do conjunto (ou "pool") gênico da espécie por longos períodos (SWEET POTATO PLANNING CONFERENCE, 1987).

A conservação da coleção de batata-doce in vivo é realizada pela manutenção de duas plantas de cada acesso, em vasos com capacidade para 5 litros, em solo autoclavado. As plantas são tutoradas como forma de evitar a mistura de ramas, o que comprometeria a identidade e as informações geradas sobre cada acesso. A coleção é frequentemente inspecionada para evitar perdas e misturas de acessos. Na coleção in vitro, foi priorizada a introdução de acessos que apresentassem morfologia única, ou seja, que não apresentassem duplicações na coleção, identificadas durante o processo de caracterização morfológica, como será discutido mais adiante. (RITSCHEL, 1999c). A planta de batata-doce é autoincompatível, mas produz sementes por polinização cruzada, que mantém sua viabilidade por períodos de até 20 anos (BASSET, 1986). Cerca de 30% dos acessos apresentaram dificuldade de florescimento nas condições do Distrito Federal (RITSCHEL et al., 1999b). Nesses casos, são tentadas práticas indicadas para indução do florescimento em batata-doce, como o tutoramento, o anelamento, a submissão das plantas ao estresse hídrico ou a um regime de dias curtos ou ainda a enxertia dos materiais recalcitrantes em plantas de *Ipomoea nil* (SWEET POTATO PLANNING CONFERENCE, 1987).

Considerando-se a forma como a coleção foi reunida e o método de propagação utilizado, esperava-se que houvesse certo nível de duplicações dentro da coleção de batata-doce. A ocorrência de duplicatas dentro de coleções de germoplasma encarece e dificulta a manutenção adequada do germoplasma, gerando problemas de organização e dificultando o

acesso de usuários potenciais ao recurso genético. A caracterização morfológica de acessos de um banco de germoplasma é normalmente a forma mais acessível de quantificar a diversidade genética e tem sido bastante utilizada em bancos de germoplasma. Descritores específicos para a cultura da batata-doce estão disponíveis (SWEET POTATO PLANNING CONFERENCE, 1987). Pela análise de agrupamento, foi possível identificar um nível de 38% de duplicações morfológicas na coleção mantida pela Embrapa Hortaliças, de 51% na coleção mantida pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. (Epagri) e de 13% na coleção mantida pela Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (Pesagro). Não foram encontradas duplicações morfológicas na coleção mantida pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA). O maior grupo morfológico, com 19 acessos, foi identificado na coleção mantida pela Embrapa Hortaliças, e é composto por acessos de origens diversas, coletados em 11 estados brasileiros. A análise conjunta das coleções resultou em um nível de duplicação de cerca de 40%, com a formação de 72 grupos morfológicos. Não foram observadas sobreposições entre as coleções regionais analisadas (RITSCHEL et al., 1999b; RITSCHEL; HUAMÁN, 2002).

Marcadores ou descritores moleculares vêm sendo aplicados na organização de bancos de germoplasma e são considerados mais informativos que marcadores morfológicos, pois representam a variação de DNA. Marcadores RAPD e AFLP foram utilizados na avaliação do banco de batata-doce. Neste estudo, as diferenças entre os grupos definidos morfologicamente foram confirmadas. A identidade total entre os acessos que compõe cada grupo morfológico (observada com a aplicação de descritores morfológicos) não foi confirmada com marcadores RAPD (RITSCHEL et al., 1999c). Esse resultado permite inferir que 10% dos acessos do BAG/batata-doce são duplicatas genéticas.

Os acessos da coleção mantida pela Embrapa Hortaliças foram ainda avaliados para algumas características agronômicas (RITSCHEL et al.,

1996), como resistência a artrópodes (FRANÇA; RITSCHEL, 2002) e resistência a nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) (RITSCHEL et al., 1999c).

O estabelecimento do relacionamento genético entre os acessos que compõem o BAG/batata-doce permite a composição de um extrato que reúna o máximo possível da diversidade mantida na coleção em número pequeno de genótipos. Assim, a avaliação agronômica poderá ser realizada mais facilmente com esse grupo reduzido de acessos. À medida que outras coleções regionais vão sendo incorporadas ao processo de caracterização, pode-se comparar a variabilidade dessas coleções e tem-se então um panorama da diversidade do germoplasma de batata-doce coletado e conservado em Bancos de Germoplasma no Brasil. Essas informações podem contribuir para a priorização das atividades a serem desenvolvidas com os recursos genéticos brasileiros de batata-doce

Desafios enfrentados e soluções para o manejo do banco de germoplasma de hortaliças autógamas: o exemplo das pimentas e pimentões

A Embrapa Hortaliças mantém uma coleção de germoplasma de pimentas e pimentão (*Capsicum* spp.) iniciada há 32 anos. Atualmente conta com cerca de 4 mil acessos de *Capsicum* spp., entre cultivares de polinização aberta, híbridos, linhagens e materiais silvestres, representados principalmente pelas espécies *Capsicum annuum* var. *annuum*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. chinense* e *C. frutescens*.

Uma ampla variabilidade quanto à coloração e formato do fruto, sabor, aroma, pungência, produtividade e resistência a doenças, entre outras características, é encontrada na coleção de germoplasma de *Capsicum* spp., resultando em um patrimônio genético de valor considerável. Entre os principais os problemas que ocorrem durante as etapas para a conservação de germoplasma na forma de sementes de *Capsicum* spp. estão: a

contaminação dos acessos por grão de pólen oriundo de outros materiais e a dificuldade de multiplicar a quantidade ideal de sementes de algumas espécies para armazenamento.

Na Figura 1, demonstra-se o fluxo das etapas das atividades executadas para a manutenção e conservação da coleção de germoplasma de *Capsicum* spp. da Embrapa Hortaliças.

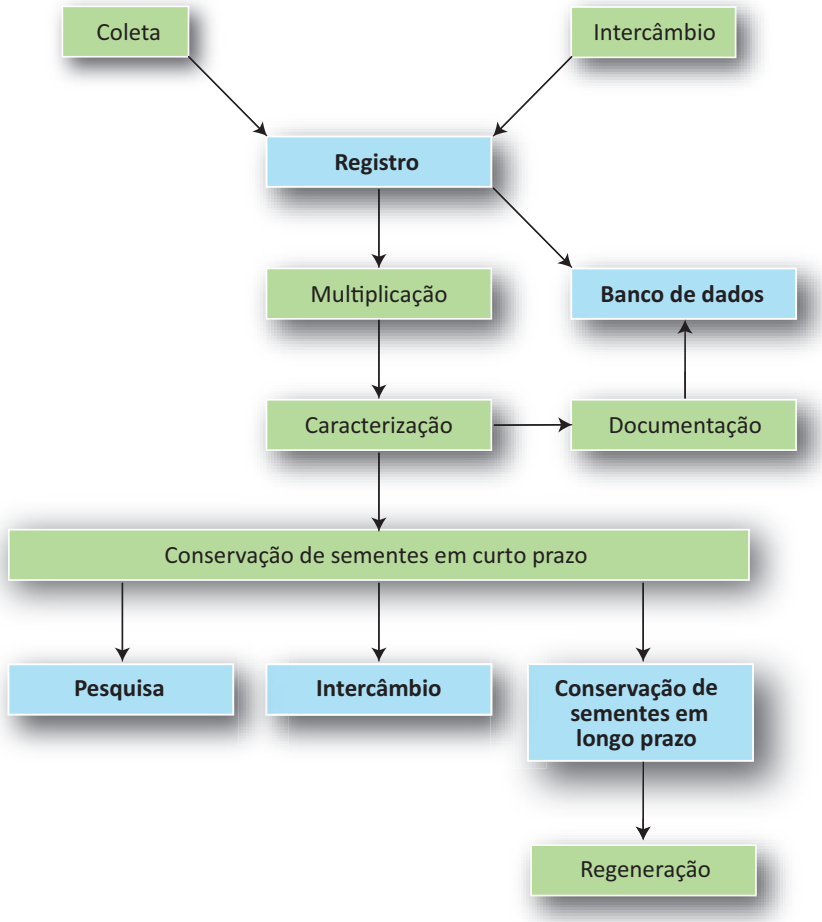


Figura 1. Fluxograma das atividades de conservação de germoplasma semente da coleção de pimentões e pimentas (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças.

Coleta e Intercâmbio

O enriquecimento da coleção de *Capsicum* spp., realizado por meio de coletas em território nacional e intercâmbio com instituições internacionais, é de fundamental importância para a conservação da variabilidade do gênero. Novos acessos podem ser obtidos por coletas realizadas em populações domesticadas, semidomesticadas e, mais importante ainda, em populações silvestres de áreas ameaçadas pela extinção. O resgate de espécies silvestres antes da sua extinção é atividade estratégica para a agricultura nacional.

Expedições de coleta de *Capsicum* spp. foram realizadas recentemente na regiões Sudeste e Norte por pesquisadores da Embrapa. Na Região Sudeste, em uma área com risco de extinção na Mata Atlântica, foram percorridos parcialmente os estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, perfazendo um total de 8.616 km, em abril de 1999. A coleta resultou em 48 acessos das seguintes espécies: *C. baccatum* L. var. baccatum, *C. baccatum* L. var. praetermissum (Heiser & Smith) Hunz., *C. buforum* Hunz., *C. campylopodium* Sendt., *C. duseni* Bitter, *C. flexuosum* Sendt., *C. schottianum* Sendt., *C. villosum* Sendt. var. villosum e três espécies novas, cujas descrições estão sendo realizadas. Os resultados dessa coleta permitiram o estabelecimento na Embrapa Hortaliças, se não da única, mas da maior coleção de espécies silvestre do gênero e confirmaram que o sudeste brasileiro é o maior centro da diversidade para espécies silvestres do gênero (BIANCHETTI et al., 2001).

Outra coleta específica de Capsicum, com ênfase em espécies domesticadas e semidomesticadas, foi realizada na Região Norte, em Manaus e municípios vizinhos, durante novembro de 2000. Ao todo foram percorridos 2.145 km de carro e barco, de onde foram coletados 135 acessos das espécies *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. annuum* var. glabriusculum. A Amazônia brasileira foi escolhida como área preferencial de coleta por apresentar maior diversidade da espécie *C. chinense*, provavelmen-

te a mais importante espécie cultivada ao leste dos Andes, na América do Sul. Pode-se concluir que *C. chinense* foi domesticada pelos indígenas amazonenses e, portanto, considera-se a mais brasileira das espécies domesticadas (REIFSCHNEIDER, 2000). A Região Norte também possui clima extremamente úmido e ecologicamente muito distinto das demais regiões brasileiras. A especificidade climática permite o desenvolvimento de raças locais plenamente adaptadas àquelas condições. Essas raças locais são fontes potenciais de genes de resistências às doenças regionais, principalmente à murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum*).

Registro

Os acessos são identificados pelo número de registro de entrada na coleção de Capsicum da Embrapa Hortaliças (CNPH), protocolados no livro de registro, sendo então anotados os demais dados de passaporte: cultivar, espécie, doador, procedência ou origem, data de aquisição e tipo de material recebido.

Multiplicação

A multiplicação e a regeneração dos acessos de Capsicum são efetuadas juntamente com a caracterização morfológica em telado. Os acessos são semeados em bandeja de isopor contendo substrato orgânico para o crescimento de mudas. O transplante de cinco plantas de cada acesso em covas com solo devidamente corrigido e adubado, conforme a análise química, é realizado no estágio de quatro folhas definitivas das plântulas, ou seja, em torno de 30 dias após a semeadura. As plantas transplantadas são cultivadas em sistema de plantio direto, após a sucessão das culturas de milho, aveia, milheto e arroz. Durante o cultivo, as plantas são irrigadas por gotejamento e os demais tratos culturais realizados conforme as recomendações de manejo usual do cultivo de pimentão.

A multiplicação é realizada por autofecundação (manual), que necessita de mão de obra treinada e serve para evitar a contaminação dos

acessos por grãos de pólen oriundo de outros materiais. É realizada em dez flores, visando à obtenção de pelo menos cinco frutos de cada indivíduo. A autofecundação das flores é feita em estágio de botão fechado na véspera da abertura. O pólen da mesma planta, coletado por uma pinça, é depositado no estigma das flores, que são protegidos por roletes de papel alumínio. Uma etiqueta de papel contendo o número do acesso, a data e o nome do operador é pendurada no pedúnculo de cada flor autofecundada. Todos os frutos dos acessos são colhidos e identificados como originários da autofecundação ou provenientes de polinização aberta.

Alguns acessos são reconduzidos ao processo de multiplicação por apresentarem baixa produção de sementes, causada pela dificuldade natural para produção de sementes ou por alta susceptibilidade a diferentes patógenos.

Caracterização

Estudos da variabilidade genética de Capsicum spp. são realizados por meio da caracterização morfológica, molecular e resistência a doenças, para retroalimentar o programa de melhoramento correspondente, gerando informações precisas e, assim, disponibilizando o uso de cada material para fins de melhoramento.

A caracterização morfológica da coleção de germoplasma de *Capsicum* spp. da Embrapa Hortaliças foi iniciada no período de 1998 a 2002, quando 654 acessos foram multiplicados e caracterizados (CARVALHO et al., 2003). Foram utilizados 57 descritores morfológicos (INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES, 1995) contemplando caracteres de planta, inflorescência, fruto e semente. Os acessos também foram caracterizados molecularmente. A análise de 254 acessos de *Capsicum* spp. foi realizada com marcadores de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), utilizando-se 55 marcadores selecionados, para a amplificação e análise de polimorfismo de DNA. A

análise de similaridade genética permitiu a organização do germoplasma em quatro grandes grupos, subdivididos de similariedade genética de por espécies: *C. annuum, C. baccatum, C. chinense* e *C. frutescens* (LINS et al., 2001).

A identificação de acessos com resistência múltipla às principais doenças que atingem as diferentes espécies de *Capsicum* spp. foi realizada para murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum* biovares 1 e 3), mancha-bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria), murcha-de-fitófora (*Phytophthora capsici*), oídio (*Oidiopsis taurica*), Tospovirus e Potyvirus. Foi possível selecionar cerca de 25 acessos com resistência múltipla a dois ou mais patógenos. A análise conjunta dos resultados das caracterizações morfológica e molecular, juntamente com a avaliação para resistência a doenças, permitiu o estabelecimento das relações genéticas entre acessos, identificando aqueles com resistência múltipla e alta dissimilariedade genética. Esses acessos constituem hoje as principais fontes de resistência para os programas de melhoramento da Embrapa (LOPES, 2000). A existência desse banco já permitiu o lançamento de novas cultivares de pimentas doces e picantes para o processamento industrial (RIBEIRO et al., 2003).

Documentação em banco de dados

Os dados de caracterização morfológica da coleção de germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Hortaliças, juntamente com os dados de registro e a foto digitalizada, foram documentados e lançados no banco de dados em sistema computadorizado, por meio do programa Access. Esse programa permite a visualização de um conjunto de informações de modo simples e eficiente e já está em pleno uso, principalmente pelos melhoristas envolvidos no projeto. Essas informações encontram-se disponíveis no endereço eletrônico: http://www.cnph.embrapa.br/projetos/capsicum/consulta_base.html.

Conservação das sementes

As sementes colhidas são extraídas manualmente, lavadas em água fria e secadas. Durante a pré-secagem das sementes, o material fica numa sala com ambiente a 32 °C por 48 horas. Depois são transferidos para estufa elétrica a 40 °C por 48 horas, para redução do teor de umidade em torno de 5%. A conservação do germoplasma está sendo efetuada pelo acondicionamento de sementes em papel aluminizado. As sementes embaladas permanecerão na câmara fria a 4 °C e umidade relativa de 50%. O período de conservação em médio prazo previsto é de 10 anos. Paralelamente, as sementes são enviadas á coleção de base (Colbase) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia para a conservação em longo prazo em câmaras frigoríficas a -20 °C. As sementes armazenadas também são repassadas para o atendimento de demandas, como da pesquisa e intercâmbio.

Regeneração

Durante o armazenamento em longo prazo na Colbase, pode ocorrer a perda da viabilidade das sementes dos acessos. O controle da viabilidade das sementes é realizado por meio de monitoração. Quando os testes de germinação indicarem um valor menor do que 85%, ou quando a quantidade de sementes é menor do que o limite mínimo de 1.500 sementes, tem sido recomendado a regeneração (nova multiplicação dos acessos) em intervalos que dependerão da viabilidade inicial dos acessos ao entrarem no sistema de conservação (FAIAD et al., 2001).

Bancos de germoplasma de espécies olerícolas mantidos pela Embrapa Hortaliças e outras instituições tradicionais na conservação de germoplasma de hortaliças

A Embrapa Hortaliças possui mais de 19 mil acessos das diferentes espécies de hortaliças mantidos em bancos de germoplasma, que são objetos de estudo e pesquisa (Tabela 2).

Tabela 2. Conservação de germoplasma na Embrapa Hortaliças.

Família	Hortaliça	Espécie	Forma de conservação	Responsável
Aliáceas	Alho	*Allium sativum*	'in vivo' (bulbos)	Sabrina I. C. de Carvalho
	Cebola	*A. cepa*	Sementes	Valter R. Oliveira
Apiáceas	Cenoura	*Daucus carota*	Sementes	Jairo V. Vieira
	Mandioquinha- salsa	*Arracacia xanthorrhiza*	'in vivo' (mudas)	Nuno R. Madeira
Brássicas	Brocolis, couve-flor e couve manteiga	*Brassica oleracea* var. *botrytis*, var. *capitata*, var. italica	Sementes	Paulo E. de Melo
Convolvuláceas	Batata-doce	*Ipomoea batatas*	Sementes, 'in vivo' (mudas),'in vitro'	Geovani Bernardo Amaro
Cucurbitáceas	Abóboras e morangas	*Cucurbita moschata, C. maxima, C. pepo, C. ecuadorensis, Lagenaria cyceraria, Luffa cylindrica*	Sementes	José F. Lopes
	Melão	*Cucumis melo*	Sementes	Valter R. Oliveira/ Sabrina I. C. de Carvalho
	Melancia	*Citrullus lanatus*	Sementes	Jairo V. Vieira
	Pepino	*Cucumis sativus*	Sementes	José F. Lopes
Fabáceas	Leguminosas de inverno (grão de bico, lentilha e ervilha)	*Cicer arietinum, Lens culinaris, Pisum sativum*	Sementes	Warley M. Nascimento

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Hortaliça	Espécie	Forma de conservação	Responsável
Solanáceas	Batata	*Solanum tuberosum*	'in vitro'	Paulo E. de Melo/ Antônio C. Torres
	Berinjela	*S. melongena*	Sementes	Claudia S. da C. Ribeiro
	Pimentas e pimentões	*Capsicum annuum, C. baccatum, C. chinense, C. frutescens, C. pubescens, C. baccatum* var. *praeternissum, C. fleuosum, C. villosum, C. dusenii, C. buforum, C. paviflorum, C. campylopodium, C. chacoense*	Sementes	Sabrina I. C. de Carvalho / Claudia S. da C. Ribeiro
	Tomate	*Lycopersicon esculentum, L. pimpinellifolium, L. esculentum* var. *cerasiforme, L. peruvianum, L. cheesmanii, L. hirsutum, L. chilense*	Sementes	Leonardo S. Boiteux/Sabrina I. C. de Carvalho

Deve ser enfatizado que, além da Embrapa Hortaliças, várias instituições públicas brasileiras de renome nacional e internacional também estão tradicionalmente envolvidas com a conservação de germoplasma de hortaliças como: Universidade Federal de Viçosa; Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"; Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária; Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária; Instituto Agronômico de Campinas; Instituto Agronômico do Paraná; Instituto nacional de Pesquisa na Amazônia; Topseeds sementes; Asgrow do brasil sementes Ltda (VIEIRA et al., 1990).

O conhecimento e a organização do germoplasma de hortaliças são estratégicos para a manutenção desse recurso genético, e fundamental para que haja maior uso desses genótipos no desenvolvimento de cultivares mais produtivas, de qualidade superior e resistentes a doenças.

Referências

ALLARD, R. W. Princípios do melhoramento genético das plantas. São Paulo: Blücher, 1971. 381 p.

BASSET, M. J. (Ed.). **Breeding vegetable crops.** Westport: AVI, 1986. 534 p.

BIANCHETTI, L. de B.; BUSTAMANTE, P. G.; SILVA, G. P. da. Coleta de espécies silvestres de Capsicum (Solanaceae), realizada na Mata Atlântica Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 52.; REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 24., 2001, João Pessoa. **Resumos**... João Pessoa: SBB: UFPB, 2001. p. 313.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 547 p.

CARVALHO, S. I. C. de; BIANCHETTI, L. de B.; BUSTAMANTE, P. G.; SILVA, D. B. da. **Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (Capsicum spp.) da Embrapa Hortaliças.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2003. 49 p. (Embrapa Hortaliças. Documentos, 49). Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/projetos/capsicum/consulta_base.html>.

CONSERVATION on biological diversity. Rio de Janeiro: United Nations Environment Programme, 1992. 224 p.

ENGLES, J. M. M. Genebank management: an essential activity to link conservation and plant breeding. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Roma, n. 129, p. 17-24, 2002.

FAIAD, M. G. R.; GOEDERT, C. O.; WETZEL, M. M. V. da S.; SILVA, D. B. da; PEREIRA NETO, L. G. **Banco de germoplasma de sementes da Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 31 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 71).

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em analise genética.** Brasília, DF: MAARA: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documento, 20).

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, MG: UFV, 2000. 402 p.

FRANÇA, F. H.; RITSCHEL, P. S. Avaliação de acessos de batata-doce para resistência à broca-da-raiz, Crisomelídieos e Elaterídeos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n. 1, p. 79-85, mar. 2002.

INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Descriptores para Capsicum (*Capsicum* spp.) = Descriptors for Capsicum (*Capsicum* spp.).** Roma: IPGRI: AVRDC: CATIE, 1995. 49 p., 51 p. Texto bilingüe (Espanhol e Inglês).

LINS, T. C. L. de; LOURENÇO, R. T.; TAVARES, H. M. F.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; FERREIRA, M. E.; BUSO, G. S. C. Caracterização molecular e análise da diversidade de acessos de *Capsicum* utilizando marcadores moleculares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2001, Goiânia. **Anais**... Goiânia: UFG: Embrapa Arroz e Feijão: Agência Rural, 2001. Resumo.

LOPES, C. A. (Coord.). **Uso da diversidade genética de pimentas e pimentão para o desenvolvimento de genótipos de interesse do agronegócio brasileiro**. Brasília, DF: PRODETAB, 2000. 23 p.

MIRANDA, J. E. C. de. **Batata-doce**: novas cultivares. Brasília, DF: EMBRAPA-CNPH, 1987. Folder. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/cultivares/bat-doce.htm>.

PLUCKNET, D. L.; WILLIAMS, J. T.; SMITH, N. J. H.; ANISHETTY, N. M. **Bancos geneticos y la alimentación mundial**. Costa Rica: IICA: CIAT, 1992. 257 p.

PUIGNAU, J. P.; CUNHA, R. da. (Ed.). **Conservación de germoplasma vegetal**. Montevideo: IICA: PROCISUR, 1996. 163 p. (IICA. Dialogo, 45).

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.). **Capsicum**: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília, DF: EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia: EMBRAPA-CNPH, 2000. 113 p.

RIBEIRO, C. S. da C.; SOUZA, O. de B.; KICH, A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Lançamento de três cultivares de pimenta do tipo Jalapeño pela Embrapa Hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, jul. 2003. Suplemento 2.

RITSCHEL, P. S.; AGUILAR, C.; HUAMAN, Z. Variabilidade para características produtivas e de raízes de acessos de batata-doce mantidos pelo BAG-CNPH. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 112, maio 1996. Resumo.

RITSCHEL, P. S.; HUAMÁN, Z. Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata-doce da Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 37, n. 4, p. 458-492, abr. 2002.

RITSCHEL, P.; HUAMAN, Z.; FLARESSO, J. A.; DIAS, A.; ARAUJO, M. L. de. Descrição e análise da variabilidade morfológica do banco ativo de germoplasma de batata-doce: coleções mantidas no Distrito Federal, Santa Catarina, Pernambuco e Rio de Janeiro. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMERICA LATINA E CARIBE, 2., 1999, Brasília, DF. **Anais**... Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1999a. Resumo.

RITSCHEL, P. S.; HUAMAN, Z.; LOPES, C. A.; MENEZES, J. E.; TORRES, A. C. **Catálogo de germoplasma de batata-doce**: I. coleção mantida pela Embrapa Hortaliças. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 1999b. 47 p. (Embrapa Hortaliças. Documentos, 23).

RITSCHEL, P. S.; LOPES, C. A.; HUAMAN, Z.; FERREIRA, M. E.; FRANÇA, F. H.; MENEZES, J. E.; TEIXEIRA, D. M. C.; TORRES, A. C.; CHARCHAR, J. M.; THOMAZELLI, L. Organização do banco ativo de germoplasma de batata-doce: situação atual e perspectivas. In: QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA; Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1999c. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br>. Acesso em: 05 dez. 2004.

SWEET POTATO PLANNING CONFERENCE, 1., 1987, Lima. **Exploration, maintenance, and utilization of sweet potato genetic resources**: report. Lima: CIP, 1988. 369 p.

VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L.; GOES, M. de. Conservação ex situ de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 123-147.

VIEIRA, J. V.; BUSO, J. A.; MIRANDA, J. E. C. de; LOPES, J. F.; ARAUJO, M. T.; GIORDANO, L. de B.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; BOITEUX, L. Recursos genéticos de espécies hortícolas no Brasil. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE ESPÉCIES HORTÍCOLAS, 1., 1989. Campinas. **Anais**... Campinas: Fundação Cargill, 1990. p. 1-14.

VIEIRA, J. V.; DELLA VECCHIA, P. T.; IKUTA, H. Cenoura Brasília. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 42, nov. 1983.

9

Conservação de Germoplasma-Semente de Espécies Leguminosas, Oleaginosas e Fibrosas em Longo Prazo

Maria Magaly Velloso da Silva Wetzel
Solange C. Barrios Roveri José
Marcos Aparecido Gimenes
Juliano Gomes Pádua
Leonel Gonçalves Pereira Neto
Dijalma Barbosa da Silva

Introdução

Nas últimas décadas, a produção brasileira de grãos vem sendo incrementada significativamente, devido ao desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas às diferentes condições edafoclimáticas do País. Nesse contexto, a conservação de recursos genéticos assume o papel fundamental de fornecer variabilidade genética que possibilite aos programas de melhoramento desenvolver novas variedades que atendam de forma adequada as múltiplas exigências do mercado. Para isso, as coleções de germoplasma, devidamente documentadas e conservadas, devem ser representativas em número de acessos de espécies cultivadas (ou de importância econômica), bem como de gêneros e espécies afins.

Neste capítulo, será apresentado o status das principais coleções de germoplasma-semente de leguminosas, oleaginosas e fibrosas de maior importância para o agronegócio brasileiro (soja, feijão, amendoim, girassol, mamona e algodão), conservadas em longo prazo, na forma de Coleção de Base (Colbase), na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

O manejo das sementes na Colbase segue os padrões internacionais de qualidade estabelecidas pelo Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas (International Plant Genetic Resources Institute-IPGRI) (FAO, 1994), atualmente Bioversity International, com algumas adequações (FAIAD et al., 2001). Esses procedimentos foram apresentados detalhadamente no Capítulo 5 "Conservação de Germoplasma – Semente em Longo Prazo" deste livro.

Coleção de Soja

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, superado apenas pelos Estados Unidos da América. Na safra 2006/2007, a cultura ocupou uma área de 20,687 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 58,4 milhões de toneladas. Dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior mostram que a soja tem uma importante participação nas exportações brasileiras. Por exemplo, em 2006 foram contabilizados US$ 9,3 bilhões, o que representou 6,77% do total exportado (EMBRAPA SOJA, 2008).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o Brasil colheu 142,12 milhões de toneladas de grãos em 2008, dos quais 59,50 milhões de toneladas (41,87%) são representados pela soja, que, nessa safra, teve um incremento de 1,9% na produção, quando comparada com o ano anterior (CONAB, 2008).

A soja pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, e ao gênero *Glycine* L. (PROBST; JUDD, 1973). A soja (*Glycine max* L.)

originou-se há pelo menos 3000 anos, e não foi cultivada fora da Ásia até 1900 (HANCOCK, 1992).

O gênero *Glycine* é dividido em dois subgêneros, *Soya* e *Glycine*, sendo o subgênero *Glycine* formado por 12 espécies silvestres perenes, cujo centro de distribuição é a Austrália (2n = 40 ou 80), e o subgênero *Soya* composto pela espécie anual cultivada *G. max* e a silvestre *G. soya*, ambas 2n = 40 (HANCOCK, 1992).

Grande parte da popularidade da soja se deve a sua produção recorde de proteína, que vai de 39% a 45% e seu alto conteúdo de óleo (HANCOCK, 1992). A combinação ímpar de altos teores de proteína e de óleo, juntamente com níveis adequados de produtividade de grãos em ambientes diversos, torna a soja uma das espécies mais importantes para a humanidade (TSUTSUMI, 2007). Recentemente, a soja vem sendo utilizada como fonte alternativa para a produção de biodiesel.

A coleção mundial de germoplasma dessa cultura é bastante expressiva, com 168.588 acessos distribuídos em 152 instituições de diversos países, destacando-se a China com 47.447 acessos (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). No Brasil estão sendo conservados 8.000 acessos do gênero *Glycine* no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Soja e 9.179 acessos, em longo prazo, de cinco espécies do gênero *Glycine* (*G. cyrtoloba* Tindale, *G. max* (L.) Merr., *G. soja* Siebold & Zucc., *G. tabacina* (Labill.) Benth., *G. tomentella* Hayata) na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, dos quais 99% pertencem a espécie *G. max* (L.). A maioria desses acessos foi procedente da Embrapa Soja, introduções provenientes dos Estados Unidos e de coletas realizadas desde 1983. Dos acessos armazenados na Colbase, 2.689, ou seja, 29% foram provenientes da coleção de soja dos Estados Unidos (SIBRARGEN, 2008).

As avaliações da qualidade fisiológica das sementes de acessos de soja da espécie *G. max* incorporados à Colbase indicaram que 58,7% des-

ses acessos apresentavam potencial germinativo inicial superior a 80%, e para *G. soja*, uma espécie silvestre, essa porcentagem foi apenas de 20,8% (Tabela 1). A qualidade inicial das sementes dos acessos é um dos fatores que determinam o potencial de armazenamento dessas sementes.

Tabela 1. Qualidade fisiológica inicial das sementes dos acessos de *Glycine*.

Espécie	Número de acesso com PGI[(1)] inicial determinado	Nº de acesso com PGI > 80%	% do total avaliado
G. max (L.) Merr.	4.534	2.662	58,7
G. soja Siebold & Zucc.	48	10	20,8

[(1)] PGI: potencial germinativo inicial.

Na Tabela 2, pode-se verificar que sementes dos acessos armazenadas por 20 anos em temperatura subzero (-20 °C) apresentaram uma redução de 4,7% do potencial germinativo inicial, o que não ocorreu nas sementes dos acessos armazenadas nas mesmas condições por um período de 10 anos, com uma redução de 68%. Os dados de germinação foram obtidos da média de todos os acessos que apresentaram o mesmo período de armazenamento e que continham dados de potencial germinativo inicial e final. Sementes de soja são bastante influenciadas pelas condições ambientais após a maturidade fisiológica, podendo causar injúrias ao tegumento, comprometendo consequentemente o seu desempenho. Ademais, por apresentar lipídeos em sua composição, também é bastante suscetível ao processo de deterioração.

É importante ressaltar que, além dos procedimentos operacionais realizados antes do armazenamento das sementes propriamente dito, deve-se atentar para a qualidade do germoplasma-semente que é recebido na Colbase, proveniente da coleta, da introdução e do intercâmbio realizado com outras instituições e BAGs. Esse último ponto é de grande importância para a manutenção da qualidade fisiológica do germoplasma durante o armazenamento. Acessos com reduzida qualidade fisiológica,

avaliada em função do poder germinativo, tendem a apresentar uma redução do percentual germinativo mais rapida que acessos com melhor qualidade fisiológica. Isso pode ser observado na Tabela 2. Acessos com elevada percentagem de germinação (PG) apresentaram reduções entre 3,6% e 14,1%,enquanto para o grupo de acessos com apenas 57% de PG, foi verificada uma redução de 68,4% no PG.

Tabela 2. Valores médios do potencial germinativo no início e final do armazenamento de sementes de alguns acessos de *G. max*.

Nº de acesso	Nº de anos de armazenamento	Média PGI[1] (%)	Média PGF[2] (%)
479	20	84	80
130	19	83	80
111	10	57	18
469	6	85	73

[1] PGI: potencial germinativo inicial.
[2] PGF: potencial germinativo final.

Wetzel et al. (2002) observaram que, para 394 acessos de soja (*G. max*) armazenados na Colbase por 22 anos, não houve variações no potencial germinativo de 83% dos acessos, incorporados com poder de germinativo inicial superior a 80%.

Coleção de Feijão

Os grãos de feijão representam uma importante fonte proteica na dieta humana dos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, particularmente nas Américas (47% da produção mundial) e no leste e sul da África (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2008).

No Brasil, existem grandes variações regionais quanto à preferência por tipos de grãos consumidos. O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*

L.) é a espécie mais plantada e consumida na maioria dos estados, enquanto o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) tem seu cultivo concentrado nas regiões Norte e Nordeste, sendo, nessas regiões, considerado uma cultura de subsistência para o pequeno agricultor e constituindo-se numa das principais fontes proteicas de sua dieta.

A produção nacional de feijão em 2008, incluindo as espécies *P. vulgaris* e *V. unguiculata*, totalizou 3.506,9 mil toneladas. As regiões Nordeste (1.095,4 mil toneladas) e Sul (1.050,7 mil toneladas) apresentam as maiores contribuições para o montante dessa produção (CONAB, 2008).

Feijoeiro comum

O feijão (*Phaseolus* spp.) é uma dicotiledônea, originária da América Tropical, pertencente à família Leguminoseae (OSPINA et al., 1980). Entre as 52 espécies descritas do gênero, apenas cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greeman (DEBOUCK, 1999). A espécie *Phaseolus vulgaris* L. (feijoeiro comum) é a mais cultivada no Brasil e juntamente com o arroz compõem o prato típico da culinária brasileira. As demais espécies são silvestres, apresentam grande variabilidade genética e se constituem em importantes fontes de genes para a ampliação da base genética de *P. vulgaris* L. por meio de hibridações interespecíficas e processos biotecnológicos.

A coleção mundial de germoplasma do gênero *Phaseolus* totaliza 215.849 acessos, conservados em 202 instituições. O Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat), localizado em Cali na Colômbia, é a instituição que tem o mandato de manutenção dos recursos genéticos mundiais de *Phaseolus*, mantendo 32.586 acessos (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). No Brasil, estão sendo conservados 27.688 acessos de *Phaseolus* em várias instituições, destacando-se a Embrapa Ar-

roz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO, com 14.460 acessos, e a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, com 13.475.

Os acessos de germoplasma de *Phaseolus* conservados em longo prazo na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia foram provenientes do intercâmbio com outros países, de programas de melhoramento genético conduzidos na própria empresa e em instituições públicas (institutos de pesquisa e universidades) e de expedições de coleta realizadas no País.

As coletas de germoplasmas de *Phaseolus* vêm sendo realizadas no Brasil desde 1980. Até 2005, foram realizadas 18 expedições, que cobriram regiões de dez estados, incluindo Minas Gerais, com o maior número de expedições realizadas, seguida pelos estados da Bahia, Rio Grande do Sul, Espírito Santo, Alagoas, Pernambuco, Goiás, Mato Grasso do Sul, Paraná e Santa Catarina, tendo sido coletados mais de 4 mil acessos. Atualmente, reconhece-se uma grande variabilidade genética de variedades crioulas ou de raças locais (*landraces*) de feijão que ocorrem no Brasil. Devido à expansão agrícola, muitas dessas variedades encontram-se sob risco de extinção, e as expedições de coleta devem ser realizadas como estratégia de resgate e conservação da variabilidade (WETZEL et al., 2005).

A importação de germoplasma-semente de *Phaseolus* no Brasil tem sido realizada de forma contínua, existindo, inclusive, um convênio com o Centro internacional de Agricultura Tropical (Ciat) com o objetivo de estabelecer uma duplicata da Coleção Internacional de *Phaseolus* na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Até o presente, foram incorporados à Colbase 13.475 acessos, de 40 espécies e subespécies de *Phaseolus*, são elas: *P. acutifolius* A. Gray, *P. acutifolius* A. Gray var. acutifolius, *P. acutifolius* A. Gray var. latifolius G. F. Freeman, *P. acutifolius* A. Gray var. tenuifolius A. Gray, *P. angustissimus* A. Gray, *P. coccineus* L., *P. coccineus* L. ssp. Coccineus, *P. coccineus* L. ssp. darwinianus Hern. Xol. & Miranda Colín, *P. coccineus* ssp. glabellus (Piper) Delgado, *P. coccineus* ssp. polyanthus Marech. Masch. & Stain.,

P. coccineus var. albiflorus (Dc.) Bailey, *P. coccineus* var. bicolor (Vellozo) Van Eselt, *P. coccineus* var. rubronanus Bailey, *P. filiformis* Benth., *P. hintonii* A. Delgado, *P. leptostachyus* Benth., *P. leptostachyus* var. leptostachyus Benth., *P. leptostachyus* var. micranthus (H.& A.) Delgado, *P. lunatus* L., *P. lunatus* L. var. lunatus, *P. lunatus* var. silvestre Baudet, *P. maculatus* Scheele, *P. marechalii* A. Delgado, *P. microcarpus* Mart., *P. ligospermus* Piper, *P. arvulus* Greene, *P. pauciflorus* Sessé & Moc. Ex G. Don, *P. pedicellatus* Benth., *P. pedicellatus* var. leptostachyus Benth., *P. pluriflorus* Marech, Masch. & Stain., *P. polystachyus* (L.) Britt., Sterns & Poog, *P. polystachyus* var. polystachyus, *P. ritensis* M. E. Jones, *P. vulgaris* L., *P. vulgaris* ssp. vulgaris var. nanus, *P. vulgaris* ssp. vulgaris var. vulgaris, *P. vulgaris* var. aborigineus (Burk.) Baudet, *P. xanthotrichus* var. xanthotrichus, *P. ultigaris* Lamprecht. A espécie *P. vulgaris* L. apresenta o maior número de acessos, 11.628, representando 86% da coleção, seguida da *P. lunatus* L., com 1.242 acessos, correspondendo a 9,2% da coleção (SIBRARGEN, 2008).

Dos acessos incorporados à Colbase, 30% foram provenientes do Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat), com destaque para a espécie *P. vulgaris* L., podendo-se citar também *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray, *P. filiformis* Benth., *P. pedicellatus* var. leptostachyus, *P. pedicellatus* Benth., *P. microcarpus* Mart., *P. coccineus* L. e *P. coccineus* ssp. polyanthus Marech. A coleção de *Phaseolus* da Colbase é composta também por outras espécies silvestres as quais foram obtidos do banco de germoplasma de *Phaseolus* localizado em Gembloux na Bélgica. Desse banco, foram recebidos acessos de muitas espécies, como *P. microcarpus*, *P. filiformis*, *P. polystachyus*, *P. oligospermus* e *P. vulgaris* var. aborigineus. Os acessos dessas espécies foram multiplicados e caracterizados botanicamente para conhecimento da variabilidade (SILVA; COSTA, 2003; SILVA et al., 2005).

As avaliações da qualidade fisiológica das sementes armazenadas na Colbase indicaram que, dos 6.457 acessos de *P. vulgaris*, 97% apresenta-

vam sementes com potencial germinativo inicial maior que 80%, evidenciando a boa qualidade das sementes antes do armazenamento (Tabela 3). Para *P. lunatus*, essa porcentagem foi menor que 71%. De maneira geral, sementes de *Phaseolus* apresentaram qualidade fisiológica inicial satisfatória.

Tabela 3. Qualidade fisiológica inicial dos acessos de *Phaseolus*.

Espécie	Número de acesso com PGI[(1)] inicial determinado	Nº de acesso com PGI > 80%	% do total avaliado
P. vulgaris L.	6.457	6.271	97
P. lunatus L.	1.070	761	71

[(1)] PGI: potencial germinativo inicial.

Atualmente, apenas 1,15% do total dos acessos conservados apresenta germinação inferior a 75%. É importante mencionar que a qualidade das sementes durante o armazenamento pode permanecer relativamente inalterada durante certo período ou decrescer rapidamente, dependendo da qualidade e umidade inicial do produto, do manejo e das condições ambientais de armazenamento.

Avaliando o potencial germinativo inicial e após armazenamento de alguns acessos de *P. vulgaris* e *P. lunatus* por diferentes períodos, observa-se que, para *P. vulgaris*, os acessos mantiveram sua qualidade fisiológica durante o armazenamento e, para as sementes de *P. lunatus*, houve uma redução de 15% do valor inicial (Tabela 4). Fatores como incidência de patógenos, qualidade inicial e beneficiamento das sementes, entre outros, podem influenciar no potencial de armazenamento das sementes dos acessos.

Tabela 4. Valores médios do potencial germinativo no início e após diferentes períodos de armazenamento de sementes de alguns acessos de *P. vulgaris* e *P. lunatus*.

Nº de acesso	Nº de anos de armazenamento	Média PGI[1] (%)	Média PGF[2] (%)
P. vulgaris			
182	15	93	99
153	4	98	99
103	3	94	96
275	2	93	97
P. vulgaris			
296	9	85	72

[1] PGI: potencial germinativo inicial.
[2] PGF: potencial germinativo final.

Feijão-caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma dicotiledônea, pertencente à família leguminoseae, originária do continente africano e introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses, no século 16, provavelmente, no Estado da Bahia (FREIRE-FILHO et al., 2005).

O feijão-caupi adapta-se bem a uma ampla faixa de clima e solo, destacando-se solos de baixa fertilidade, por apresentar elevada capacidade de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (EHLERS; HALL, 1997).

A coleção mundial de germoplasma do gênero *Vigna* possui 101.561 acessos, conservados em 114 instituições. O International Institute of Tropical Agriculture (IITA), na Nigéria, com 18.870 acessos, é a organização mundial responsável pelo banco internacional de germoplasma de *Vigna*, contendo as espécies utilizadas na alimentação, como também todas as silvestres pertencentes a esse gênero (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007).

No Brasil, estão sendo conservados 5.744 acessos em longo prazo na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF (SIBRARGEN, 2008) e 1.500 acessos no BAG de caupi da Embrapa Meio Norte, Teresina, PI.

A partir de 1976, houve um grande esforço para aumentar a disponibilidade da variabilidade genética de *V. unguiculata* (L.) Walp no Brasil por meio da introdução de novos acessos, principalmente, dos Estados Unidos, de onde veio o maior número de acessos.

Expedições de coleta de germoplasma de caupi também foram realizadas no Brasil, visando à obtenção de genótipos adaptados aos diferentes ecossistemas (ARAÚJO et al., 1984). As expedições de coleta foram realizadas em diversos locais e regiões ao longo dos anos, como resultado de ações da Embrapa Arroz e Feijão e de instituições de pesquisa estaduais. O maior número de acessos foi obtido na Região Nordeste, onde a cultura tem sua maior importância.

A Coleção de Base de Germoplasma-Semente de *Vigna*, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, é formada por 5.744 acessos de 17 espécies e subespécies.São elas : *V. adenantha* (Meyer) Marech.; Masch. & Stain., *V. angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi, *V. marina* (Burm.) Merr., *V. mungo* (L.) Hepper, *V. radiata* (L.) R. Wilczek, *V. umbellata* (Thumb.) Ohwi & H. Ohashi, *V. subterranea* (L.) Verdc., *V. wilmati*, *V. aconitifolia* (Jacq.) Marech., *V. luteola* (Jacq.) Benth., *V. unguiculata* (L.) Walp., *V. unguiculata* (L.) Walp. ssp. Unguiculata, *V. nguiculata* (L.) Walp. subsp., pubescens (R. Wilczek) Pasquet, *V. unguiculata* var. sinensis, *V. unguiculata* (L.) Walp. ssp. sesquipedalis (L.) Verdc., *V. unguiculata* (L.) Walp. subsp. cylindrica (L.) Verdc., incluindo, também, uma duplicata da Coleção Nuclear Americana. A espécie *V. unguiculata* (L.) Walp apresenta o maior número de acessos (4.907), representando 85,4% da coleção, seguida da *V. unguiculata.* (L) Walp. SSP. unguiculata, com 518 acessos, correspondendo a 9,0% da coleção (SIBRARGEN, 2008).

As avaliações da qualidade fisiológica das sementes de caupi indicam que mais de 80% dos acessos das espécies cultivadas *V. unguiculata* e *V. radiata* apresentaram, em média, germinação inicial maior que 80%, indicando que as etapas de produção das sementes, bem como o próprio manuseio pós-colheita; podem ter influenciado positivamente na qualidade inicial dessas sementes (Tabela 5).

Tabela 5. Qualidade fisiológica inicial das sementes dos acessos de Vigna.

Espécie	Número de acesso com PGI[1] inicial determinado	Nº de acesso com PGI > 80%	% do total avaliado
V. unguiculata (L.) Walp.	4.567	3.768	82
V. radiata (L.) R. Wilczek	87	74	85

[1] PGI: potencial germinativo inicial.

As sementes das espécies de *V. unguiculata* (L.) Walp. e *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek também mantiveram sua qualidade fisiológica durante vários períodos de armazenamento (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios do potencial germinativo no início e após diferentes períodos de armazenamento de sementes de alguns acessos do gênero *V. unguiculata* e *V. radiata.*

Nº de acesso	Nº de anos de armazenamento	Média PGI[1] (%)	Média PGF[2] (%)
V. unguiculata (L.) Walp.			
228	12	94	97
83	11	91	94
162	10	94	97
445	3	95	97
V. radiata (L.) R. Wilczek			
21	9	86	93

[1] PGI: potencial germinativo inicial.

[2] PGF: potencial germinativo final.

As diferenças observadas entre o potencial germinativo inicial e final podem ser decorrentes da interferência de diversos fatores, incluindo a presença de sementes dormentes e duras, influenciadas pelo tempo de armazenamento.

Coleção de Amendoim

O amendoim é um alimento de grande valor nutricional, possuindo alto teor proteico e de aminoácidos essenciais, que compõem de 21% a 36% do peso do grão. Devido a essas características, o amendoim integra a dieta alimentar diária de algumas regiões da África e da Ásia, onde a situação nutricional é precária e as taxas de mortalidade infantil são bastante altas (FREITAS; MARGARIDO, 2006). Além de suas qualidades nutricionais, o amendoim tem grande aceitação pelo seu sabor agradável, o que o torna um produto destinado ao consumo in natura como aperitivo salgado ou como doces. Os grãos também são utilizados para extração do óleo, empregado diretamente na alimentação humana, na indústria de conservas (enlatado) e em produtos medicinais (AGROBYTE, 2006). A principal reserva armazenada em suas sementes é o lipídio, numa porcentagem de 48% (MARCOS-FILHO, 2005), apresentando grande valor para a produção de biodiesel.

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento, a produção brasileira de amendoim em 2008 será de 202,3 mil toneladas, provenientes, principalmente da Região Sudeste que contribuirá com 84% desse total (CONAB, 2008).

O gênero *Arachis* é originário da América do Sul e distingue-se de outros representantes da família por possuir uma estrutura particular de frutificação chamada esporão ou "peg", que apresenta desenvolvimento geocárpico (formação subterrânea das vagens). O provável centro primário de origem desse gênero, que é composto por 80 espécies (KRAPOVICKAS; GREGORY, 1994, GODOY et al., 1999), é a região

planaltina entre Mato Grosso do Sul e o Paraguai (GREGORY et al., 1980).

O gênero é dividido em nove secções, todas ocorrentes no Brasil, país que reúne a maior parte das espécies. Cinco das secções avançam também sobre o Paraguai; duas alcançam a Bolívia, a Argentina e o Uruguai; e apenas a secção *Arachis*, a mais adaptada e que contém o amendoim comum, ocorre nos cinco países. Sete secções englobam apenas espécies perenes. A secção *Arachis* reúne espécies perenes e anuais, e a *Heteranthae*, exclusiva do quadrante nordeste do Brasil, é formada somente por espécies de ciclo anual (VALLS, 1997).

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.) é dicotiledônea anual de autofecundação e um alotetraploide (AABB) originado pelo cruzamento de duas espécies diploides silvestres de genomas AA (*A. duranensis*) e BB (*A. ipaënsis*) (KOCHERT et AL., 1996; SEIJO et al., 2004).

As coleções de germoplasma do gênero *Arachis* estão sendo mantidas por 112 instituições, totalizando 88.276 acessos, dos quais 73.578 (83%) são da espécie *Arachis hypogaea*. A Índia é o país que apresenta o maior número de acessos desse gênero (29.882), sendo 98% constituídos pela espécie *Arachis hypogaea* (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007).

No Brasil, a conservação de germoplasma de *Arachis* está sendo realizada em 83 instituições. Na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estão sendo conservados 2.087 acessos desse gênero no BAG de *Arachis*. Esse banco se destaca como o mais completo do mundo, por conservar acessos das 80 espécies descritas até o momento. Na Colbase estão sendo conservadas, em longo prazo, três espécies e alguns híbridos complexos da secção *Arachis e Arachis hypogaea*. São elas: *A. silvestis* (Chevalier) Chevalier, *A. porphyrocaly* x Valls & C. E. Simpison., *A. dardanoi* Krapov. & W. C. Gregory, *Arachis* hibrido (F2), *Arachis* hibrido (F3), *A. hypogaea* L., *Arachis* híbridos complexos sp., *A. Silvrestris* séc. *Arachis* x *A. hypogae*) (SIBRARGEN, 2008), totalizando 702 acessos, dos quais 670 (95%) per-

tencem a espécie *A. hypogaea*. Desses, 527 foram procedentes do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), e o restante, oriundos de coletas (SIBRARGEN, 2008). Quanto à qualidade fisiológica das sementes, 78% apresentavam potencial germinativo inicial superior a 80%.

Os resultados da monitoração da viabilidade das sementes de 487 acessos (Tabela 7) indicaram que, após 17 a 18 anos de armazenamento em câmara fria (-20 °C), sementes dos acessos incorporados com germinação entre 75% a 84%, em média, apresentaram uma redução na viabilidade de 13% e, para aquelas com germinação entre 85% a 100%, essa redução foi de 4,65%. Após dez anos de armazenamento, pode ser observada redução de 3,19% para 92 acessos incorporados com poder de germinação entre 85% a 100%. Pôde-se verificar que houve uma maior redução da viabilidade das sementes com qualidade inicial mais baixa, no mesmo período de armazenamento. No entanto, essa redução não foi superior a 15%, para que esses acessos sejam enviados para a regeneração no BAG. Considerando que esses valores representam a média entre acessos armazenados por um mesmo período de tempo, pode-se dizer que a monitoração da viabilidade de sementes de amendoim, com qualidade inicial igual ou superior a 75%, pode ser realizada por períodos maiores que 10 anos.

Tabela 7. Monitoração da viabilidade de acessos de amendoim conservados em longo prazo na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2004.

Viabilidade inicial (%)	Anos de armazenamento	Número de acesso	Potencial de germinação (%)		Redução da viabilidade (%)
			Inicial	Final	
75-84	17	25	80,72	70,36	12,83
	18	17	80,77	70,06	13,26
85-100	10	92	93,99	90,99	3,19
	17	239	94,26	90,53	3,95
	18	114	93,90	88,88	5,35

Fonte: Wetzel et al. 2004.

Coleção de Girassol

A cultura do girassol encontra-se em franca expansão em todo mundo. No Brasil, a produção nacional de girassol em 2008 atingiu 139,7 mil toneladas, das quais 76% são provenientes da Região Centro-Oeste (CONAB, 2008). O girassol é uma cultura com ampla capacidade de adaptação a diversas condições edafoclimáticas, além de apresentar alta tolerância à seca. Nos últimos anos, vem se apresentando como opção de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos (LEITE et al., 2007).

O gênero *Helianthus* pertence à família Asteraceae, e é composto por 51 espécies e 19 subespécies, sendo 14 espécies anuais e 37 perenes (SEILER, 2007). O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma dicotiledônea anual, de polinização cruzada, originária do Continente Americano, e, somente no século 20, a cultura passou a ser mais divulgada, principalmente pelas suas qualidades como planta oleaginosa (ROGERS; THOMPSON, 1980). As primeiras referências sobre o cultivo do girassol no Brasil datam de 1924, embora se presuma que a cultura tenha entrado no Rio Grande do Sul no final do século 19, trazida pelas primeiras levas de colonos europeus, que consumiam as sementes torradas e também fabricavam uma espécie de chá, muito rico em cafeína e substituto do café no desjejum matinal. Os primeiros plantios comerciais foram feitos no Rio Grande do Sul, no final da década de 1940 (DALL´AGNOL et al., 2005).

Graças ao trabalho de melhoramento genético e de difusão tecnológica conduzidos pela Embrapa e demais instituição de pesquisa, pode-se afirmar que o produto vem se consolidando como cultura de expressão no Brasil (CARVALHO, 2007). A partir da década passada, fontes alternativas de produtos industriais têm tido atenção especial, e a cultura do girassol tem se destacado por apresentar potencial para atender tanto as

demandas nutricionais como industriais, com importantes características agronômicas, qualidade de óleo na alimentação (OLIVEIRA; VIEIRA, 2004), utilização como fonte de energia alternativa e como ornamental.

As coleções de germoplasma do gênero *Helianthus* totalizam 26.929 acessos mantidos por 74 instituições, distribuídas em 48 países. Sérvia e Montenegro detêm o maior número de acesso do gênero *Helianthus* (5.591), dos quais 94% são da espécie *Helianthus annuus* (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007).

No Banco Ativo de Germoplasma de Girassol da Embrapa Soja estão sendo conservados 2.200 acessos, e, na coleção de base do Cenargen, existem 2.312 acessos, de 44 espécies e subespécies de *Helianthus*; são elas: *H. agrestis* Pollard, *H. angustifolius* L., *H. annuus* L., *H. anomalus* S. F. Blake, *H. argophyllus* Torr. & A. Gray, *H. atrorubens* L., *H. bolanderi* A. Gray, *H. ciliaris* DC., *H. debilis* Nutt. ssp. Debilis, *H. debilis* Nutt. ssp. silvestris Heiser, *H. debilis* Nutt. ssp. tardiflorus Heiser, *H. debilis* Nutt. ssp. vestitus (E. Watson) Heiser, *H. debilis* ssp. cucumerifolius (Torr. & A. Gray) Heiser, *H. decapetalus* L., *H. deserticola* Heiser, *H. divaricatus* L., *H. gigantheus* L., *H. gracilentus* A. Gray, *H. grossesseratus* Martens, *Helianthus* hibrido, *H. maximilianii* Schrad., *H. mollis* Lambert, *H. neglectus* Heiser, *H. niveus* (Benth.) Brandegee ssp. canaescens (A. Gray) Heiser, *H. nuttallii* Torr. & A. Gray, *H. nuttallii* Torr. & A. Gray spp. rydbergii (Britton) R. Long, *H. nuttallii* Torr. & A. Gray ssp. Nuttallii, *H. occidentalis* Riddell ssp. Occidentalis, *H. occidentalis* Riddell ssp. plantagineus (Torr. & A. Gray) Heiser, *H. paradoxus* Heiser, *H. pauciflorus* Nutt., *H. pauciflorus* Nutt. ssp. Pauciflorus, *H. pauciflorus* Nutt. ssp. subrhomboideus (Rydb.) O. Spring & E. E. Schill., *H. petiolaris* Nutt. ssp. fallax Heiser, *H. petiolaris* Nutt. ssp. Petiolaris, *H. petiolaris* Nuttall, *H. praecox* Engelm. & A. Gray, *H. praecox* Engelm. & A. Gray ssp. Hirtus (Heiser) Heiser, *H. praecox* Engelm. & A. Gray ssp. Praecox, *H. praecox* Engelm. & A. Gray ssp. runyonii (Heiser) Heiser, *H. salicifolius* A. Dietr., *H. tuberosus* L., *Helianthus x laetiflorus* Pers.. Do total de acessos, 2.043 (88%) pertencem à espécie *Helianthus*

annuus. A maioria desses acessos (92%) foi incorporada a partir de 2001, e foram cedidas principalmente pela Embrapa Soja e Estados Unidos, que em 2006 disponibilizou 728 acessos de diferentes espécies de *Helianthus* (SIBRARGEN, 2008).

Para os acessos de *H. annuus*, em que foi determinada a qualidade inicial de suas sementes, apenas 63% apresentaram germinação superior a 80%. Fatores como desuniformidade na maturação das sementes, qualidade sanitária e manuseio após colheita podem ter influenciado para essa baixa qualidade. A monitoração da coleção de girassol ainda não foi finalizada.

Os resultados de monitoração de um reduzido número de acessos avaliados indicam ligeira queda de viabilidade das sementes armazenadas. Em sementes oleaginosas, como o girassol, os lipídios representam cerca de 46% das reservas armazenadas nas sementes (BEWLEY; BLACK, 1994), e a instabilidade química dos lipídios constitui um dos fatores preponderantes para a queda do desempenho das mesmas.

Coleção de Mamona

A mamoneira *(Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa de elevado potencial energético. De suas sementes é extraído um óleo com várias aplicações importantes, podendo citar revestimentos protetores (tintas e vernizes), plásticos, lubrificantes, fluidos hidráulicos, produtos farmacêuticos, além do biodiesel (COSTA, 2006). Os lipídeos são as principais reservas armazenadas nas sementes, podendo atingir até 64% (MARCOS-FILHO, 2005), entretanto, em média, nas cultivares comerciais, essa porcentagem é de aproximadamente 48% (FREIRE, 2001)

A planta apresenta fácil adaptação a diversos ambientes e encontra-se espalhada por todo o território nacional, chegando a ser confundida como planta nativa do Brasil. Trata-se de excelente alternativa agrícola

para cultivo em diversas regiões, destacando-se o semi árido devido a sua considerável resistência à seca (SEVERINO et al., 2005). Em 2008,houve uma produção de 169,4 mil toneladas de mamona, das quais 74% foram provenientes da Região Nordeste (CONAB, 2008).

A espécie *R. communis* L. (mamona) é uma dicotiledônea pertencente à família Euphorbiaceae, e inclui todos os tipos de mamoneiras existentes. Segundo Popova e Moskin (1986), o centro de diversidade da mamona está localizado na Etiópia e no leste da África, com existência de centros secundários. Esses autores, também, propuseram um esquema de classificação para a mamoneira, no qual a espécie *Ricinus communis* L. é representada por seis subespécies e 25 variedades botânicas. As plantas de mamoneira variam grandemente podendo-se encontrar tipos botânicos com porte baixo ou arbóreo, ciclo anual ou semiperene (SICHIMANN et al., 1978). Além dos diversos tipos existentes, ocorrem altas taxas de alogamia na mamona, e não há barreiras morfogenéticas que impeçam o cruzamento, criando híbridos com características intermediárias entre subespécies (MILANI et al., 2006).

Conforme dados obtidos da Bioversity International, as coleções de germoplasma da espécie *R. communis* estão sendo mantidas por 68 instituições, totalizando 6.224 acessos, distribuídos em 28 países. A China é o país que detém o maior número de acessos desse gênero (1.689) (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). Na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estão sendo conservados em longo prazo 778 acessos de *R. communis* L., dos quais 57% foram introduzidos dos Estado Unidos. Desses acessos, apenas 28% apresentaram germinação de sementes superior a 80%. No BAG de mamona da Embrapa Algodão, estão sendo conservados 875 acessos de mamona.

A avaliação da qualidade fisiológica das sementes para todos os períodos avaliados evidencia um incremento na germinação das sementes (Tabela 8). Esse aumento pode ser explicado pela remoção da carúncula antes da instalação do teste de germinação, na fase de monitoração,

o que não ocorreu no início do armazenamento, refletindo assim numa germinação mais baixa das sementes. A retirada da carúncula, além de proporcionar uma germinação mais uniforme, reduz o crescimento de microrganismos, promovendo um melhor desempenho das sementes.

Tabela 8. Valores médios do potencial germinativo no início e final do armazenamento de sementes de alguns acessos de *R. communis*.

Nº de acesso	Nº de anos de armazenamento	Média PGI[1] (%)	Média PGF[2] (%)
5	27	53	94
15	20	31	84
11	19	82	80
21	18	52	82
49	17	73	86
58	13	56	83
17	9	89	90
26	5	50	84

[1] PGI: potencial germinativo inicial.
[2] PGF: potencial germinativo final.

Coleção de Algodão

Entre as fibrosas, o algodão é a espécie de maior importância no mundo e no Brasil. A área plantada com algodão é da ordem de 36 milhões de hectares, dos quais cerca de 90% dos referem-se a *G. hirsutum* (DESAW; HAU, 2006). No Brasil, na safra 2007/2008, os plantios de algodão chegaram a 1,15 milhão de ha, um incremento de cerca de 5% em relação aos anos de 2006/2007 (FARIAS, 2005). A produção brasileira alimenta o parque têxtil nacional, o sétimo maior do mundo, responsável pela receita de mais de U$ 2 bilhões e um saldo na balança comercial de US$ 657 milhões (ABIT, 2005).

As plantas vulgarmente conhecidas como algodão pertencem ao gênero *Gossypium*, família Malvaceae (FRYXELL, 1979). Atualmente, apenas quatro espécies são cultivadas: as tetraploides *G. hirsutum* e *G. barbadense*, e as diploides *G. arboreum* e *G. herbaceum*.

A classificação mais aceita para o gênero *Gossypium* foi proposta por Fryxell (FRYXELL, 1979; FRYXELL et al., 1992), que reconhecem 45 espécies diploides e cinco tetraploides. Endrizzi et al. (1985) organizaram as espécies em sete grupos citogenômicos (A, B, C, D, E, F e G). Porém, Fryxell et al. (1992) consideram mais um grupo (K), constituído pelas espécies australianas seção Grandicalyx: *G. costulatum*, *G. cunninghamii*, *G. enthyle*, *G. exiguum*, *G. londonderriense*, *G. marchantii*, *G. nobile*, *G. pilosum*, *G. populifolium*, *G. pulchelum*, *G. rotundifolium*, baseando-se em dados de localização geográfica, morfologia e ecologia. O grupo genômico A compreende duas espécies afro-asiáticas: G. *herbaceum* e G. *arboreum*. O grupo genômico B é composto por *G. anomalum*, *G. barbosanum* e *G. capitis-viridis*. Fazem parte do genoma C: *G. sturnianum*, *G. nandewarece*, *G. robinsonii* e *G.* australe. As espécies de genoma D (13 espécies, entre elas *G. thurberi*, *G. trilobum*, *G. davidsonii*, *G. aridum*, *G. klotzchianum*, *G. gossypioides*), que se apresentam diploides (2n=26), são encontradas no Novo Mundo (GUO et al., 2006). Guo et al. (2006) afirmaram que a espécie de genoma F, *G. longicalyx*, divergiu do genoma E, encontrado em sete espécies distribuídas na África e Arábia, entre elas *G. stocksii*, *G. bricchettii*, *G. vollesenii*, *G. somalense*, *G. areysianum* e *G. incanum*, enquanto o genoma G, representado por *G. bickii*, *G. australe* e *G. nelsonii*, divergiu do genoma C. As espécies tetraploides surgiram do cruzamento entre uma espécie asiática relacionada à *G. herbaceum* e *G. arboreum*, de genoma A (genitor feminino), com uma espécie americana de genoma D (genitor masculino), relacionada à *G. raimondii* e *G. gossipioides* (WENDEL et al., 1992). Após a poliploidização (AADD) desse híbrido, surgiram cinco novas espécies: *G. barbadense*, *G. hirsutum*, *G. darwinii*, *G. tomentosum* e *G. mustelinum* (ADAMS; WENDELL, 2004).

O centro de origem do gênero *Gossypium* não é conhecido, porém o centro de diversidade primário localiza-se nas regiões sul e centro-oeste do México, nordeste da África e Arábia e na Austrália, onde ocorrem 18, 14 e 17 espécies nativas, respectivamente (WENDEL; ALBERT, 1992; SEELANAN et al., 1997). Também são encontradas espécies de *Gossypium* no Peru e Brasil (BELTRÃO; ARAÚJO, 2004).

No Brasil, encontramos as espécies *G. mustelinum*, *G. barbadense* e *G. barbadense* var. *brasiliense* e *G. hirsutum* var. *marie galante*. A distribuição geográfica de *G. mustelinum*, restrita às serras do Araripe, Crato-CE; serra da Formiga Caicó-RN; Serra de Tonã, Macururé-BA e serras do município de Caraiba-BA (FREIRE et al., 1990), a torna alvo prioritário de coleta, pois as populações dessa espécie estão ameaçadas pelas práticas agrícolas, fatores ambientais e extrativismo.

Coletas de germoplasma de *Gossypium* spp. vêm sendo realizadas no Brasil desde 1920. Inicialmente o objetivo dessas coletas foi a preservação do algodão mocó, *G. hirsutum* var. *marie galante* (FREIRE, 2000). Atualmente, as coletas abrangem outras espécies, como *G. mustelinum*, *G. barbadense* var. *brasiliense*, uma vez que se reconhece grande variabilidade genética nas espécies silvestres ou "mestiçadas" de algodoeiro ocorrendo no Brasil, que, devido à expansão agrícola, encontram-se sob risco de extinção.

Em um levantamento realizado pela Bioversity International, constatou-se que estão conservados 69.518 acessos de diversas espécies de *Gossypium*, obviamente, não considerando as duplicatas existentes entre todas as coleções. As principais coleções mundiais estão localizadas na Índia (18.955 acessos) e EUA (11.154 acessos). No Brasil, segundo esse mesmo levantamento, estão conservados 5.122 acessos, representando cerca de 7,4% dos acessos conservados, o que a posiciona como a sexta maior coleção do mundo (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007).

A coleção de *Gossypium* mantida na Colbase compreende 33 espécies. São elas: *G. anomalum*, *G. arboreum*, *G. areysianum*, *G. aridum*,

G. armourianum, *G. austrae*, *G. barbadense*, *G. barbadense* var. *brasiliense*, *G. barbadense* var. *barbadense*, *G. barbosanum*, *G. bickii*, *G. capitis-viridis*, *G. arwinii*, *G. davidsonii*, *G. gossypioides*, *G. harknessii*, *G. herbaceum*, *G. hirsutum*,*G. hirsutum* var. *Latifolium*, *G. hirsutum* var. *marie-galante*, *G. hirsutum* var. *marie-galante* x var. *latifolium*, *G. hirsutum* var. *morrilli*, *G. hirsutum v*ar. *punctatum*, *G. hirsutum* var. *richmondi*, *G. hirsutum* var. *yucatanense*, *G. hirsutum* var. *palmeri*, *G. hirsutum* x *G. arboreum* x *G. thurberi*, *G. incanum*, *G. klotzschianum*, *G. lanceolatum*, *G. lobatum*, *G. ongicalyx*, *G. mustelinum*, *G. nandewarense*, *G. nelsonii*, *G. raimondii*, *Gossypium robinsonii*, *Gossypium somalense*, *G. stocksii*, *G. sturtianum*, *G. sturtianum* var. *nandewarense*, *G. thurberi*, *G. tomentosum*, *G. trilobum*, *G. triphyllum.*

Desde 1982 até o presente, foram incorporados à Coleção de Base 3.113 acessos de *Gossypium* spp., sendo 42% (1.307 acessos) introduzidos via importação, principalmente, dos Estados Unidos (40,6% do total de acessos), e 26,8% foram coletados no país. *Gossypium hirsutum* L. é a espécie com maior número de acessos (2.239), representando 71,7% da coleção, seguida da *G. barbadense* L. (473 acessos) e *G. arboreum* L. (219 acessos), que perfazem 15,2% e 7,0%, respectivamente (SIBRARGEN, 2008).

Os resultados da monitoração (Tabela 9) de um reduzido número de acessos de *Gossypium* armazenados por até 26 anos na Colbase indicaram a manutenção dos índices de germinação verificados no momento da incorporação dos mesmos (MIRANDA et al, 2001).

Lu et al. (2004) analisaram a germinabilidade de acessos de 23 espécies cultivadas armazenadas na China há mais de uma década. Foram avaliados 200 acessos de *Gossypium arboreum*, tendo-se verificado uma queda significativa da viabilidade das sementes. O poder germinativo inicial médio desses 200 acessos era de 96% e foi reduzido para 90% após 10 a 12 anos de armazenamento.

Tabela 9. Resultado da monitoração do poder germinativo de acessos de algodão armazenados há 26 anos na Colbase.

Denominação	Código	Data do armazenamento	PGI[1] (%)	PGF[2] (%)	Redução do PG (%)
IPEACO SL-7	BRA 000132	1/3/1973	95	91	4,2
IAC 13-1	BRA 000159	1/3/1973	77	83	0
IAC RM3	BRA 000183	1/3/1973	90	82	8,9
AFC 65-52-36	BRA 000426	1/3/1973	86	87	0
IPEACO SLH 62-616	BRA 002046	1/3/1973	81	83	0

[1] PGI: potencial germinativo inicial.
[2] PGF: potencial germinativo final.

Dependendo da espécie, as sementes de algodão podem apresentar dormência primária ou induzida, principalmente, por baixas umidades, que dão origem às sementes duras, ou seja, aquelas impermeáveis à água (CHRISTIANSEN; MOORE, 1959). Segundo Usberti et al. (2006), sementes duras de algodão são originadas quando estas são desidratadas a 5%-6% de umidade. Esse fato traz consequências diretas para a conservação de sementes de algodão em longo prazo, já que as condições de armazenamento são as mesmas que induzem o surgimento de sementes duras.

Atualmente, o melhoramento genético do algodoeiro deve ser capaz de gerar variedades resistentes a doenças e pragas, com fibras de alta qualidade, de forma a diminuir os efeitos da competição com as fibras sintéticas. Porém, dentro do germoplasma melhorado, existe uma baixa diversidade genética, insuficiente para dirimir esses problemas. Assim, germoplasma selvagem de Gossypium pode contribuir para o atendimento a esses objetivos (BÖLEK et al. 2003).

Resistência para doenças importantes tem sido relatada em parentes silvestres do algodão. Algumas espécies diploides australianas apresentam resistência a *Fusarium oxysporum* fsp. vasinfectum, como *G. sturtianum* e *G. australe* (MCFADDEN et al., 2004; LOPEZ-LAVALLE et al.,

2007). *Gossypium arboreum*, nativo do Paquistão, apresenta resistência ao ClCuV (Cotton Leaf Curl Virus). Fontes de resistência à mancha-de-ramulária *(Ramularia areola*) são encontradas em *G. hirsutum* (variedades Laxmi, MCU 5, BJA 592 e Reba BKT 12) e em *G. barbadense*. Já a espécie *G. australe* pode ser utilizada como fonte de genes para resistência à seca (SOUZA et al., 1991).

Considerações Finais

A conservação de germoplasma-semente de leguminosas, oleaginosas e fibrosas é uma atividade de fundamental importância para os programas de melhoramento genético, pois constitui uma reserva preciosa de características de importância agronômica que podem vir a contribuir no desenvolvimento de novas cultivares.

Além das espécies abrangidas neste capítulo, outras espécies de leguminosas e (ou) oleaginosas com potencial de uso no agronegócio, como a canola, gergelim, linho, cuphea, ervilha, lentilha e grão-de-bico, também fazem parte da Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Os procedimentos adotados para a conservação em longo prazo têm sido satisfatórios, no entanto a preocupação na melhoria dos processos que envolvem as atividades de conservação deve ser constante, visando não somente redução de custos de manutenção como também melhor qualidade dos produtos armazenados, incluindo nesse contexto informações sobre a qualidade sanitária das sementes. Entretanto, é importante mencionar que toda essa atividade de conservação de germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é realizada em parceria com os BAGs, por meio das curadorias, seja dos produtos, seja dos bancos, responsáveis pelo enriquecimento das coleções, avaliação, caracterização, conservação e disponibilização do germoplasma.

De maneira geral, pode-se concluir que as coleções de germoplasma-semente de leguminosas, oleaginosas e fibrosas de maior importância para o agronegócio brasileiro encontram-se bem conservadas (-20 ºC), na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e possuem boa representatividade em relação ao número de acessos conservados, bem como de gêneros e espécies afins.

Referências

ADAMS, K. L.; WENDEL, J. F. Exploring the genomic mysteries of polyploidy in cotton. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 82, p. 573-581, 2004.

AGROBYTE. **Amendoim**. Disponível em: <http://www.agrobyte.com.br/>. Acesso em: 23 jan. 2008.

ARAUJO, J. P. P.; RIOS, G. P.; WATT, E. E.; NEVES, B. P. das; FAGERIA, N. K.; OLIVEIRA, I. P. de; GUIMARÃES, C. M.; SILVEIRA FILHO, A. **Cultura do caupi, vigna unguiculata (L.) Walp.:** descrição e recomendações técnicas de cultivo. Goiânia: Embrapa-CNPAF, 1984. 82 p. (Embrapa-CNPAF. Circular Técnica, 18).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA TÊXTIL - ABIT. Disponível em: <http://www.abit.org.br/>. Acesso em: 29 jan. 2008.

BELTRÃO, N. E. M.; ARAÚJO, A. E. **Algodão**: o produtor pergunta e a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 265 p. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.

BIOVERSITY INTERNATIONAL. **Germplasm collection**. Disponível em: <http://www.bioversityinternational.org/>. Acesso em: 20 dez. 2007.

BÖLEK, Y. Status of genome mapping and use in cotton improvement. **Journal Science and Engineering**, v. 6, p. 72-79, 2003.

CARVALHO, C. G. P. de. **A participação do melhoramento de girassol na produção de biodiesel**. Disponível em: <http://www.ufla.br/eventos/cbmp/PDF/Claudio%20Portela.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2007.

CHRISTIANSEN, M. N.; MOORE, R. P. Seed coat structural differences that influence water uptake and seed quality in hard seed cotton. **Agronomy Journal,** v. 51, p. 582-584, 1959.

CONAB. Companhia Brasileira de Abastecimento. **Safras**: grãos. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=73&NSN=615>. Acesso em: 15 jun. 2008.

COSTA, M. N. da. **Análise dialélica das capacidades geral e específica de combinação utilizando técnicas uni e multivariadas e divergência genética em mamoneira (*Ricinus communis* L.).** 2006. 132 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

DALL´AGNOL, A.; VIEIRA, O. V.; LEITE, R. M. V. B. de C. **Origem e histórico do girassol.** In: LEITE, R. M. V. B. de C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. Girassol no Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 1-12.

DEBOUCK, D. G. **Diversity in phaseolus especies in relation to the common bean**. In: SING, S. P. (Ed.). Common bean improvement in the twenty-first century. Dordrecht: Kluwer, 1999. p. 25-52.

DESAW, D.; HAU, B. Inventory and history of the CIRAD cotton (Gossypium spp.) Germplasm collection. **PGR Newsletter,** v. 147, p. 52-58, 2006.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.). **Field Crops Research,** v. 53, n. 1-2, p. 187-204, 1997.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Sistema de produção**: cultivo do feijoeiro comum. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.htm>. Acesso em: 16 jun. 2008.

EMBRAPA SOJA. **A soja**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=22&cod_pai=16>. Acesso em: 15 jun. 2008.

ENDRIZZI, J. E.; TURCOTTE, E. L.; KOHEL, R. J. Genetics, Cytology and Evolution of *Gossypium*. **Advances Genetics**, v. 23, p. 271-375, 1985.

FAIAD, M. G. R.; GOEDERT, C. O.; WETZEL, M. M. V. S.; SILVA, D. B.; PEREIRA NETO, L. G. **Banco de germoplasma de sementes da Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa, 2001. 31 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 71).

FAO. **Genebank standards**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1994. 13p.

FARIAS, F. J. C. **Índice de seleção em algodoeiro herbáceo**. 2005. 121 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

FREIRE, E. C. **Distribuição, coleta, uso e preservação das espécies silvestres de algodão no Brasil.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2000. 22 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 78).

FREIRE, E. C.; MOREIRA, J. A. N.; MIRANDA, A. R. de; PERCIVAL, P. E.; STEWART, J. M. **Identificação de novos sítios de ocorrência de *Gossypium mustelinum* no Brasil.** Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1990. 7 p. (EMBRAPA-CNPA. Pesquisa em andamento, 10).

FREIRE, R. M. M. Ricinoquímica. In: AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil.** Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2001. p. 295- 334.

FREIRE-FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. dos. Melhoramento genético. In: FREIRE-FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). **Feijão-Caupi**: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 29-75.

FREITAS, S. M. de; MARGARIDO, M. A. **Fatores que influenciam o cultivo de amendoim das águas no Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/dowload/cas/publicações/pdf/asp-2-03-3.pdf>. Acesso em: 12 maio 2006.

FRYXELL P. A.; CRAVEN, L. A.; STEWART, J. M. A revision of *Gossypium* sect. *Grandicalyx* (Malvaceae), including the description of six new species. **Systematic Botany,** v. 17, p. 91-114, 1992.

FRYXELL, P. A. **The natural history of the cotton tribe**. Texas: A&M University Press, College Station, 1979. 245 p.

GODOY, I. J.; MORAES, S. A.; ZANOTTO, M. D.; SANTOS, R. C. **Melhoramento do amendoim.** In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 51-94.

GREGORY, W. C.; KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, M. P. Structure, variation, evolution and classification in *Arachis*. In: SUMMERFIELD, R. J.; BUNTING, A. H. (Ed.). **Advances in Legume Science**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1980. p. 469-481.

GUO, W.; WANG, W.; ZHOU, B.; ZHANG, T. Cross-species transferability of G. arboretum-derived EST-SSRs in the diploid species of Gossypium. **Theoretical and Applied Genetics,** v. 112, p. 1573-1581, 2006.

HANCOCK, J. F. Protein plants. In: PLANT evolution and the origin of crop species. New Jersey: Prentice–Hall,1992. 305 p.

KOCHERT, G.; STALKER, H. T.; GIMENES, M.; GALGARO, L.; LOPES, C. R.; MOORE, K. RFLP and cytogenetic evidence on the origin and evolution of allotetraploid domesticated peanut *Arachisn hypogaea* (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 83, p. 1282-1291, 1996.

KRAPOVIVKAS, A.; GREGORY, W.C. Taxonomy of the genus *Arachis* (Leguminasae). **Bonplandia**, v. 8, p.1-186, 1994.

LEITE, R. M. V. B. C.; CASTRO, C.; BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, F. Á.; CARVALHO, C. G. P.; OLIVEIRA; A. C. B. **Indicações para o cultivo de girassol nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 4 p. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico, 78).

LOPEZ-LAVALLE, L. B.; McFADDEN, H.; BRUBAKER, C. The effect of Gossypium C-genome chromosomes on resistance to fusarium wilt in allotetraploid cotton. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 115, p. 477-488, 2007.

LU, X. X; CHEN, X. L.; CUI, C. S. Germination ability of seeds of 23 crop plant species after a decade of storage in the National Gene Bank of China. **PGR Newsletter,** v. 139, p. 42-46, 2004.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p. (FEALQ. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 12).

McFADDEN, H.; BEASLEY, D.; BRUBAKER, C. L. Assessment of *Gossypium sturtianum* and *G. australe* as potential sources of Fusarium wilt resistance to cotton. **Euphytica,** v. 138, p. 61-72, 2004.

MILANI, M.; MIGUEL-JÚNIOR, S. R.; OLIVEIRA, É. C. S. de.; NÓBREGA, M. B. de M., COSTA, M. N. da. **Caracterização taxonômica de acessos de mamona (*Ricinus communis* L.) do banco ativo de germoplasma da Embrapa Algodão**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 17 p. (Embrapa Algodão. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 67).

MIRANDA, A. R.; PEREIRA NETO, L. G. **Monitoração da coleção de base de germoplasma de algodão (Gossypium spp).** In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., Londrina. **Anais**... Londrina: Editora do Norte Ltda, 2001.

MOSCONE, E. A. Physical mapping of the 5s and 18s–25s rRNA genes by FISH as evidence that *Arachis duranensis* and *A. ipaënsis* are the wild diploid progenitors

of *A. hypogaea* (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 91, p.1294-1303, 2004.

OLIVEIRA, M. F de; VIEIRA, O. V. **Extração de óleo de girassol utilizando miniprensa**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 27 p. (Embrapa Soja. Documentos, 237).

OSPINA, H. F.; HIDALGO, R.; SONG, L.; GEPTS, P. **Diversidad genetica de las especies cultivadas del genero Phaseolus**. Cali, Colômbia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1980. 52 p. (Guia de estudos).

POPOVA, G. M.; MOSKIN, V. A. Botanical classification. In: MOSKIN, V. A. (Ed.). **Castor.** New Delhi: Amerind, 1986. p. 11-27.

PROBST, A. H.; JUDD, R. W. **Origin, U.S. history and development, and world distribution.** In: CALDWELL, B. E.; HOWELL, R. W.; JUDD, R. W.; JOHNSON, H.W. **Soybeans**: improvement, production and uses. Madison, Wiscosin: Society of Agronomy, 1973, p. 681.

ROGERS, C. E.; THOMPSON, T. E. *Helianthus* resistance to the sunflower beetle (Coleoptera:Chrysomelidae). **Journal of the Kansas entomological society**, v. 53, n. 4, p. 727-730, 1980.

SEELANAN, T.; SCHNABEL, A.; WENDEL, J. F. Congruence and consensus in the cotton tribe (Malvaceae). **Systematic Botany**, v. 22, p. 259-290, 1997.

SEIJO, J. G.; LAVIA, G. I.; FERNÁNDEZ, A.; KRAPOVICKAS, A.; DUCASSE, D.; SEILER, G. J. Wild annual *Helianthus anomalus* and *H. deserticola* for improving oil content and quality in sunflower. **Industrial Crops and Products**, v. 25, n. 1, p. 95-100, 2007.

SEVERINO, L. S.; SILVA, M. I. L.; FARIAS, BELTRÃO, V. A.; N. E. M.; CARDOSO, G. D. **Expressão sexual da mamoneira Influenciada por adubação e cloreto de Mepiquat**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2005.18 p. (Embrapa Algodão. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 60).

SIBRARGEN. **Base de Dados e Coleções**. Disponível em: <http://www.cenargen.embrapa.br/recgen/sibrargen/bradenom-port.html>. Acesso em: 07 jan. 2008.

SICHIMANN, W.; SAVY-FILHO, A.; BAZATTO, N. V. **Produção de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.).** São Paulo: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1978. 19 p. (CATI. Boletim Técnico, 131).

SILVA, D. B.; WETZEL, M. M. V. S.; SILVA, H. T.; PEREIRA NETO, L. Multiplicação e caracterização de genótipos de feijão silvestre (*Phaseolus* spp.) no Distrito federal. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO –

CONAFE; CONGRESSO DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., Goiânia, 2005. **Anais**... Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 1148-1151.

SILVA, H. T.; COSTA, A. O. **Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae).** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. 40 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 156).

SOUZA, J. G.; SILVA, J. V.; ALVES NETO, F. Utilização de espécies diplóides do gênero Gossypium em estudos e melhoramento para resistência à seca de algodoeiros tetraplóides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 289-295, 1991.

TSUTSUMI, C. Y. **Soja:** saiba sobre a saúde em Soja: medicina avançada. Disponível em: <http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias/21361>. Acesso em: 11 fev. de 2008.

USBERTI, R.; ROBERTS, E. H.; ELLIS, R. H. Prediction of cottonseed longevity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 9, p. 1435-1441, 2006.

VALLS, J. F. M. O gênero *Arachis* L. (Leguminosae): importante fonte de proteínas na pré-história sul-americana? **Arqueologia em Conexão**, n. 4, dez. 1997. Disponível em: <http://www.arqueologia.arq.br/txvalls.htm>. Acesso: 07 jan. 2008.

WENDEL, J. F.; ALBERT, V. A. Phylogenetics of the cotton genus (*Gossypium*): character-state weighted parsimony analysis of chloroplast DNA restriction site data and its systematic and biogeographic Implications. **Systematic Botany,** v. 17, p. 115-143, 1992.

WETZEL, M. M. V. S.; FAIAD, M. R.; SILVA, D. B.; ROCHA, L. M. T. Brazilian soybean base collection: monitoring. In: CHINA & INTERNATIONAL SOYBEAN CONFERENCE & EXHIBITION, 2002. **Proceedings...** Beijing, China, 2002. p. 401-403.

WETZEL, M. M. V. S.; SILVA, D. B.; SILVA, H. T.; PEREIRA NETO, L.; FONSECA, J. R. **Acervo de recursos genéticos de *Phaseolus* spp.**: conservados a longo prazo. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO – CONAFE; CONGRESSO DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., Goiânia, 2005. [**Anais...**]. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 1123-1126.

WETZEL, M. M. V. S.; SILVA, D. B.; VALLS, J. F. M.; PAIS, V. O. Conservação de germoplasma-semente de amendoim (*Arachis hypogaea*). In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE ESPECIALISTAS EM ARACHIS, 7., Brasília, DF. [**Anais**...]. Brasília, DF: Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia, 2004. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 127). p. 192-212.

10

Cereais e Pseudocereais

Carlos Roberto Spehar

Diversidade e Recursos Genéticos em Cereais

Cereais receberam esse nome em referência à deusa Ceres, com base na tradição da Grécia antiga, há cerca de 500 anos A.C. Naquela época, o trigo, a cevada e a aveia eram os grãos que sustentavam a civilização mediterrânea. No extremo oriente, o arroz fazia esse papel, enquanto, na África, eram o sorgo e o milheto. Na América, cultivava-se o milho há milênios. Esse grupo de plantas, do mais importante para a humanidade, pertence à família Poaceae ou das gramíneas. É interessante ressaltar que, em ambientes tão variados de clima e solo, tenham surgido e se adaptado, estando associadas às comunidades e à cultura dos povos.

Durante o período da domesticação das respectivas espécies, a grande preocupação dos povos era conservar as sementes dessas plantas tão importantes à sua sobrevivência. Variações fenotípicas de interesse eram mantidas, originando variedades. O melhoramento genético, ainda que tenha se fundamentado nos avanços do século 20, tem sido praticado pe-

las comunidades que cultivavam os cereais, mediante seleção massal em variedades locais (SPEHAR; PEREIRA, 2006).

No Egito, há 5 mil anos já se buscavam variedades de trigo com altos rendimentos e resistentes a doenças. Na Etiópia, origem do tef (*Eragrostis tef*), variações desse cereal com minúscula semente eram selecionadas e mantidas pelas comunidades de agricultores há milênios. Dele se produz o alimento básico daquele país (TEFERA et al., 1992). Nesses dois casos, bem como na cevada, aveia e no arroz, têm-se exemplos de espécies de autopolinização, enquanto o milho, o milheto e o centeio são espécies alógamas. As implicações dessas diferenças nos cereais serão apresentadas neste texto.

De forma sucinta e objetiva, enfatizar-se-á a informação necessária à obtenção e conservação de germoplasma das principais espécies de cereais, em apoio aos programas de melhoramento genético. Pretende-se também demonstrar a importância de se diversificar, ampliando o número de opções para a agropecuária. Com esse propósito, serão apresentadas espécies menos conhecidas de cereais que esperam oportunidade para compor a agricultura e a dieta mundial.

Dado ao grande número, as espécies e gêneros serão agrupados da seguinte forma: origem e espécies afins e ancestrais; modo de reprodução; constituição genômica; características fenotípicas e de rendimento; uso de marcadores na caracterização, identificação de acessos e conservação; definição de coleções com a respectiva resposta genotípica; e correlações entre caracteres morfológicos. Como o detalhamento de caracteres úteis na conservação, por espécie, seria exaustivo, optou-se por usar exemplos, como nos pseudocereais.

Os estudos sobre origem e a relação de espécies cultivadas com silvestres é de importância na conservação e, também, serão enfatizados neste texto.

Cereais de Polinização Aberta

Milho

Milho (*Zea mays*) é o cereal de polinização aberta com mais estudos. Por ser uma planta monoica, apresenta uma estrutura reprodutiva que favorece os cruzamentos. A flor masculina, localizada no topo da planta, lança o pólen sobre as flores femininas (espiga) abaixo. Como o pólen é anemófilo (levado pelo vento), a polinização cruzada predomina, criando infinitas possibilidades de combinações genéticas. O milho é uma espécie diploide, apresentando 2n=20. Os cromossomos de teosinto (*Zea mexicana* L.) são semelhantes aos do milho, sugerindo ser essa uma espécie ancestral, de onde teria evoluído, com interferência humana (KIESSELBACH; PETERSEN, 1925; DOEBLEY, 2004). Vale acrescentar que a variabilidade em *Z. mexicana* pode ser aproveitada para transferir genes desejáveis ao milho, pois produzem híbridos férteis.

Muito antes da descoberta da América, os povos indígenas cultivavam milho para sua alimentação. Desenvolveram variedades locais, por seleção massal, com alguns caracteres de interesse, como rendimento, tamanho, coloração e dureza do grão; numero de dias à floração; tamanho de espiga e altura de plantas. No processo de seleção, realizado por essas comunidades, simultaneamente e em um território diverso, acumulou-se extraordinária variabilidade. Nesse período, hibridações entre espécies devem ter ocorrido ao acaso, sendo as novas combinações morfológicas recuperadas pelos agricultores.

Pode-se imaginar que, desde o sul do Canadá até a Argentina, em uma imensa variedade de clima e solo, a seleção ensejou o surgimento de variedades locais, as quais consistem de populações de polinização aberta, fixando alguma característica, como coloração e tamanho do grão. A

plasticidade da espécie, conferida pela alogamia, permitiu que se moldassem as populações de milho tornando-as grande fonte de variabilidade. Assim, se podia fazer frente a fatores adversos, como susceptibilidade a pragas ou a doenças. Com a chegada dos europeus, a partir dessas variedades, aproveitou-se o material genético que se dispersou por outras partes do mundo (POLLAK; SALHUANA, 2001).

O grande problema que ameaçou essa imensa diversidade genética surgiu no século 20, com a introdução do milho híbrido. A ideia de se aproveitar o vigor das hibridações começou com estudos, a partir dos anos 1920-1930, baseados em Shull (1948), demonstrando que espécies de polinização aberta não toleram autogamia. No entanto, cruzamentos entre genótipos geneticamente distantes produziam plantas vigorosas, efeito denominado vigor híbrido. A explicação provável é de que, nessas espécies, acumulam-se genes recessivos deletérios, mascarados pelos alelos dominantes. Sua frequência na população depende da capacidade de sobreviver, e, quando desfavoráveis, permanecem em níveis de baixa frequência na população. A depressão endogâmica, quando se autopoliniza o milho por gerações sucessivas, é explicada pelo aumento na frequência desses alelos, além da interação entre eles, denominada epistasia.

Nos estudos, verificou-se que, quando linhagens obtidas por autopolinização eram cruzadas entre si, produziam um efeito de vigor híbrido que não tardou a ser explorado comercialmente. Desenvolveram-se teorias sobre as causas desse efeito e de como aproveitá-lo no melhoramento genético de milho. Até se aprimorarem métodos para identificar linhagens que melhor combinam entre si, resultando nos híbridos comerciais, foram necessários cerca de 20 anos. A partir dos anos 1940-1950, com a adoção maciça do milho híbrido, grande quantidade de variedades locais, melhoradas por gerações de agricultores, foram descartadas, causando enorme erosão genética. Claro, muitas empresas produtoras de sementes prosperaram, pois, a partir daí, os produtores, não mais podendo cultivar suas variedades, tinham que adquirir sementes.

Diante desse fato, a iniciativa privada e as instituições públicas se organizaram em um esforço para resgatar a variabilidade em milho (NASS et al, 2007). Isso foi realizado diante das evidências, pois a espécie estaria ameaçada, e com ela a agricultura. Assim, as variedades ainda existentes, associadas às comunidades de agricultores tradicionais, foram amostradas (POLLAK; SALHUANA, 2001). Esse trabalho cooperativo envolveu vários países da América Latina e Estados Unidos. Na amostragem, levaram-se em conta os dados de passaporte, como latitude, longitude, altitude, solo, clima e associações com cultivo e usos do material coletado.

As características fenotípicas foram: (a) tipo, cor, tamanho e forma de grão, classificado como farináceo, dentado, duro, pipoca, opaco e brilhante; branco, amarelo, marrom, roxo, laranja, vermelho, variegado, azul e preto; pequeno, médio e grande; retangular, triangular e redondo; (b) cor da ráquis (ou sabugo) que varia entre branco, rosa, roxo, marrom, variegado e vermelho; (c) diâmetro, comprimento e formato de espiga e sabugo, relacionados ao número de fileiras de grãos, com seu respectivo peso; (d) tipo, tamanho de flor masculina, número, formato e comprimento de folhas; (e) tamanho de pecíolo, comprimento da planta e número de dias da emergência à maturação, definindo as características da planta. Esse germoplasma, depois de caracterizado, passou a integrar as coleções existentes e tem sido utilizado em apoio ao melhoramento genético (SALHUANA et al., 1991).

No caso do Brasil, devido ao grande número de acessos, que se acumularam nas várias iniciativas de resgatar variedades, tornou-se difícil explorar o material genético, que acumula mais de 2 mil variedades locais, populações melhoradas e outros acessos introduzidos. Daí, surgir o conceito de coleção nuclear. Ou seja, por amostragem, usando-se características de passaporte, fenotípicas, moleculares e agronômicas, é possível derivar coleções menores representativas da diversidade genética. No enfoque agronômico, as referências para separar coleções com probabilidade de representar a diversidade em milho são: dias para a floração,

altura da espiga, altura da planta, número de folhas/planta, número de folhas acima da espiga, comprimento e ângulo da folha, comprimento do pedúnculo e do pendão, espaço e ramificação do pendão, ramificações primárias e secundárias do pendão, comprimento e diâmetro da espiga, número de fileiras de grãos, diâmetro de grãos, diâmetro de ráquis, diâmetro de medula, ângulo, espessura e comprimento de grão (ABADIE et al., 1997).

Portanto, o germoplasma de milho, ainda que seja grande, pode ser explorado em sua base genética, utilizando-se, como ferramenta, a análise de similaridade e distância, por componentes principais. Dessa forma, populações representativas, contendo divergência genética, são utilizadas em melhoramento genético para rendimento e reação a pragas, doenças e fatores abióticos, como acidez do solo. Algumas dessas características estão relacionadas ao rendimento, como tamanho de espiga, número de espigas por planta, tamanho de grãos, número de grãos por fileira e por espiga, ângulo das folhas em relação ao caule, e são usadas na seleção.

Centeio

O centeio, *Secale cereale* L., originou-se de cruzamentos entre espécies silvestres como *S. montanum* e *S. vavilovii*, com grande introgressão gênica. Esse último teria derivado de *S. silvestre*, que provém de *S. montanum*, ou ancestral comum (STUTZ, 1972). Dados de análise por isoenzimas confirmam a existência das quatro espécies do gênero *Secale*. As características de crescimento e de hibridações confirmam sua ancestralidade, ainda que *S. silvestre* e *S. vavilovii* sejam espécies de autopolinização (VENCES et al., 1987). Não obstante tenha se originado no oriente próximo, como o trigo e a cevada, não apresentou a mesma importância que eles.

Em centeio cultivado, as estruturas reprodutivas abertas e o pólen levado através do vento favorecem cruzamentos entre plantas da mes-

ma espécie e outras do mesmo gênero (*Secale*). O centeio é uma espécie diploide, com número de cromossomos 2n=14, ou seja, o mesmo dos genomas componentes do trigo cultivado. Portanto, graças a esse conhecimento, tornou-se possível obter uma nova espécie criada pelo ser humano no século 20, o triticale, que é produto do cruzamento entre trigo e centeio.

De forma semelhante ao milho, o centeio acumulou grande variabilidade genética, ao longo da coevolução com as comunidades de agricultores. Ademais, é possível realizarem-se cruzamentos com espécies silvestres, cuja composição genômica seja próxima à do centeio. Dessa forma, ocorre pareamento na meiose e os híbridos são férteis, ensejando grande oportunidade de gerar novas combinações gênicas por introgressão. Isto é, blocos de que incluem condicionantes de tolerância a fatores abióticos (acidez do solo, deficiência hídrica) podem ser introduzidos a partir dessas hibridações com espécies silvestres.

Por sua vez, a integridade genética de populações pode ser alterada ao longo de multiplicações (CHEBOTAR et al., 2003). Devido à condição de alogamia, pode haver diferenças na frequência gênica, o que limita o manejo e a manutenção de populações de polinização aberta. Isso traz implicações na manutenção de germoplasma, requerendo adaptações em métodos de amostragem, a partir de sementes conservadas por longo prazo.

Portanto, na conservação de centeio, faz-se necessário amostrar populações, variedades cultivadas e as variações em espécies afins. Esse material serve de base para os trabalhos de melhoramento genético. Com esse propósito, algumas características fenotípicas têm sido usadas, além dos dados de passaporte, como: altura da planta, peso de mil grãos, reação a doenças, coloração e tamanho do grão, quantidade de proteína. Incluem-se ainda os marcadores morfológicos, como coloração e tamanho do grão, coloração e tamanho das espigas.

Milheto

O milheto, *Pennisetum glaucum* ssp. *glaucum* (L.) R. Br., é um cereal de grande importância nas regiões semiáridas da África e Índia. A espécie e outras afins do mesmo gênero teriam se originado da África e se dispersado pela Ásia durante os últimos 2 a 3 mil anos. De introdução recente no Brasil, associado à ocupação do Cerrado, apresenta extraordinário potencial de cultivo econômico. As formas silvestres de milheto (*P. mollissimum*, *P. violaceum* e *P. glaucum* ssp. *monodii*) são encontradas na África, onde têm sido envolvidas na domesticação há milhares de anos (PONCETT el al., 1998). O milheto, *Pennisetum glaucum*, apresenta número básico de cromossomos 2n=14, igualando-se ao número de espécies silvestres do mesmo gênero, ensejando hibridações interespecíficas. Estas permitem acumularem-se variações genéticas, gerando inúmeras formas cultivadas de milheto.

Como em muitos cereais, as transformações mais importantes em milheto cultivado, relativas às espécies silvestres, são: indeiscência de espinhos, redução das aristas e brácteas, expondo as sementes, aumento no tamanho das sementes e do pedicelo e perda de dormência. Em relação à arquitetura da planta e fenologia, ocorreram mudanças no número de perfilhos e tamanho da espiga. O período de domesticação indica ser recente e semelhante ao milho, cevada e painço português (*Setaria italica*).

Condição semelhante à do milho, a domesticação em milheto esteve associada às comunidades que conservaram variações fenotípicas desejáveis, no processo de seleção. A grande variabilidade para caracteres morfológicos tem sido demonstrada advir de cruzamentos e introgressão de genes envolvendo espécies silvestres (MARTEL et al., 1997).

Em milheto, o germoplasma tem sido mantido por amostragens coletadas em variedades locais. Cerca de 16 mil compreendem a coleção mundial, mantida no Centro Internacional de Agricultura nos Trópicos Semiáridos, situado na Índia. O material genético está disponibilizado, mediante acordos.

O grande desafio é amostrar a variabilidade genética de forma representativa, objetivando um programa de melhoramento genético. Amostragens ao acaso, por caracteres agronômicos, morfológicos e por marcadores moleculares, possibilitaram estabelecer um tamanho mínimo de populações que representem as variações da espécie, aos moldes do que se tem realizado com milho. Ou seja, com menos de 5% dos acessos, é possível amostrar as variações, gerando coleções nucleares, graças ao apoio de marcadores morfológicos e moleculares (BHATTACHARJEE et al., 2002).

Portanto, por esses exemplos, fica evidente que, nas espécies de cereais de polinização aberta, as oportunidades para novas recombinações são imensas. Para que os genes de interesse estejam representados, torna-se necessário caracterizar os acessos e avaliar a distância entre eles. Essa é a forma que tem sido utilizada na conservação e na amostragem em populações desse grupo de gramíneas.

Cereais de Autopolinização

Trigo

As espécies cultivadas de trigo têm constituição genômica de 28 e de 42 cromossomos, respectivamente, para *Triticum durum* e *T. aestivum*. Ambos são cultivados, ainda que *T. aestivum* predomine na agricultura mundial. As duas espécies cultivadas são alopoliploides formadas por genomas simples que se uniram, ao longo da evolução, e que estiveram associados com as populações de humanos há pelo menos 10 mil anos.

Estudos no século 20 elucidaram a composição genômica do trigo. O número básico é de sete pares de cromossomos. Assim, em *T. durum*, os genomas formadores são classificados de A e B, enquanto, em *T. aestivum*, os genomas formadores são A, B e D. O número básico para cada genoma

ancestral é 2n=7. Estudos têm sido conduzidos sobre a composição do trigo e a estrutura desses genomas (MUKAI et al., 1993).

Em trigo, a ocorrência desses genomas ancestrais aumenta as possibilidades de melhoramento, via introgressão de genes para resistência a doenças e fatores abióticos. Há, nas espécies cultivadas, tolerância a diferentes condições de ploidia, gerando haploides férteis. Podem ocorrem duplicações naturais. Desde os avanços do século passado, estas se realizam artificialmente, mediante o uso de colchicina.

Assim, um cruzamento que envolva tetraploide (AABB) com diploide (AA) gera, em F1, o triploide AAB. Em retrocruzamento com *T. durum*, recupera-se, na progênie, os genomas AABB. De novo, cruzando-se, de forma recorrente, com *T. durum*, incorporam-se genes provenientes do ancestral diploide, aumentando a variabilidade. O mesmo pode ser realizado com *T. durum*, recriando-se *T. aestivum*. Quando cruzado com *Aegilops tauschii* (genoma DD), no F1, obtém-se o haploide ABD, que, por duplicação, gera AABBDD. Daí por diante, pode ser retrocruzado com *T. aestivum* (VALKOUN, 2001).

Quando se afirma que as espécies de trigo cultivado são alopoliploides, significa que os genomas ancestrais permanecem independentes e a segregação é diploide. Ou, na meiose, os cromossomos de cada genoma pareiam somente com seu homólogo. Isso equivale a dizer que, ainda sendo semelhantes, acumularam grandes variações, que impedem o pareamento. As implicações dessa junção de genomas e os estudos citogenéticos revelam que a plasticidade em trigo é muito grande e pode ser usada na "recriação" de espécies. Isso demonstra a possibilidade de se utilizarem espécies com sete pares de cromossomos, que apresentam resistência a fatores abióticos e doenças. Pode-se, assim, transferir genes condicionantes às espécies cultivadas, desde que tenham afinidade genômica e gerem híbridos férteis.

A grande dispersão das espécies ancestrais, por ambientes tão variados de clima e solo, fez com que se acumulassem variações. Alguns

cruzamentos ocorreram durante o processo de domesticação e foram recuperados. Essas combinações têm sido aproveitadas pelas comunidades de agricultores tradicionais, nas regiões de origem. Porém, nestas, a erosão genética tem sido muito grande, forçando organizarem-se coleções de germoplasma de trigo e espécies afins.

No Brasil, a conservação de trigo atua em sintonia direta com o Centro Internacional de Milho e Trigo, situado no México. O trabalho de melhoramento genético com objetivos definidos em rendimento, resistência a doenças e fatores abióticos, além de estabilidade produtiva, dependem desse germoplasma.

Arroz

Estudos recentes, com o uso de isoenzimas, sobre espécies selvagens, indicam que o Sul da Ásia seja o provável centro de origem do arroz cultivado (*Oryza sativa*). Em comum com outras espécies silvestres, como *O. rufipogon* e *O. nivara*, abundantes em muitas partes da Ásia, podem cruzar entre si e produzir híbridos férteis. Por sua vez, originária da África ocidental, encontra-se a espécie *O. glaberrima*. Essas espécies são diploides, apresentam 2n=24, e o pareamento de cromossomos depende da proximidade genômica.

No continente africano, encontram-se muitas outras espécies do gênero, como plantas silvestres. Há ainda a espécie *O. meridionalis* de origem australiana. Tentativas têm sido feitas para hibridar espécies que evoluíram em ambientes tão diferentes como os citados (NAREDO et al., 1997). Quanto mais distantes, menores as chances de se obterem sementes férteis, havendo diferença de resposta em cruzamentos recíprocos. Isso mostra que as variações podem ser transferidas para espécies cultivadas.

Diante de tão grande diversidade de espécies, estudos objetivaram verificar a transferência de marcadores de microssatélites do genoma *O.*

sativa (AA) para silvestres como *O. rufipogon* (AA), *O. officinalis* (CC) e *O. granulate* (G). Este se revelou mais distante relativo à *O. sativa*. Os microssatélites mostraram-se mais variáveis nas espécies cultivadas, contrastando com a variabilidade menor em espécies silvestres. Aqui fica a preocupação de que a domesticação significa estrangulamento, reduzindo-se a diversidade (GAO et al., 2005). Portanto, é de grande importância se considerar espécies silvestres como fontes de genes e alelos, na conservação de germoplasma. Vale acrescentar que em *O. sativa* ocorrem dois tipos, o índica e o japônica, que são classificados como subespécies.

No Brasil, ocorre um fato interessante. A espécie *O. sativa* ssp. *indica* foi introduzida pelos portugueses, não muito depois do início da colonização. A primeira tentativa fora transferir seus hábitos e costumes, inclusive os cultivos. Entre eles, estava o trigo. Porém, sua introdução em regiões tropicais brasileiras mostrou-se um fracasso, esbarrando nas limitações biológicas da espécie. Nesse mesmo período, com as viagens à Índia, foi descoberto o arroz. Por ser proveniente dos trópicos, não demorou até que fosse aqui experimentado.

Dessas introduções, surgiu o cultivo que praticamente acompanhou a colonização. Isso quer dizer que, ao longo de gerações, as variedades associadas às comunidades apresentavam grande variação genética. Ademais, erosão genética, decorrente de mudanças na população rural, passou a constituir-se em ameaça. Esforços têm sido concentrados na recuperação dessas variedades crioulas ou locais. Em adição, e também conectado com o Centro Internacional de Pesquisa de Arroz, nas Filipinas, a introdução de germoplasma agrega variabilidade genética. Desse material, dependem os programas de melhoramento. As variações fenotípicas em arroz são consideráveis em relação ao tamanho da planta, número de perfilhos, número, comprimento, espessura e ângulo da folha relativo ao caule, cor do caule, cor, tamanho e forma do fruto (tipo aquênio) e do grão, servindo de referência na análise de diversidade, juntamente com os dados de passaporte.

Na prática, existe o cultivo de arroz inundado e de várzea e o de terras altas. Essa diferença de ambientes faz com que os programas de melhoramento sejam específicos. Portanto, a conservação de germoplasma de arroz depende de ações conjuntas entre pesquisadores, levando em conta a participação de agricultores familiares que ainda mantêm variedades locais e a diversidade mantida nos genomas.

Cevada

Em cevada, três espécies do gênero *Hordeum* são cultivadas. Todas apresentam sete pares de cromossomos ou 2n=14. O número básico, igual em trigo, centeio e aveia, sugere que haja, no processo evolutivo, um ancestral comum a todas. Em cevada, os ancestrais ou espécies silvestres são: *H. vulgare* L., ou cevada com seis fileiras de grãos; *H. distichon* L., ou cevada com duas fileiras; e *H. irregulare*, na qual a espiga apresenta fertilidade somente nas flores centrais. As três podem ser anuais de inverno e de primavera, como em trigo e outros cereais desse grupo. Grande número de espécies é endêmico de muitas partes do mundo, ainda que não sejam cultivadas.

Estudos recentes mostram que cevada silvestre (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) do Oriente Próximo seja o genitor de todas as espécies cultivadas (*H. vulgare* ssp. *vulgare*). Com apoio de 38 marcadores nucleares e 5 de cloroplastos, acessos de três continentes foram avaliados. Esses marcadores foram escolhidos por não estarem situados em áreas de codificação. Resultados indicam que a domesticação tomou rumos diferentes, a partir de ancestrais comuns, em função das grandes diferenças ambientais (ORABI et al., 2007). Novamente, fica evidente que as espécies silvestres têm um importante papel na conservação de diferenças genéticas em cereais, permitindo introgressão gênica.

As características morfológicas e agronômicas principais, de uso na caracterização do germoplasma são: altura de plantas, número de nós

abaixo da espiga, cobertura sedosa e dimensões da folha, tamanho e forma da espiga, espaçamento entre espiguetas, tamanho de glumas e pilosidade, presença de arista, tamanho, forma e coloração de grãos.

Aveia

Em aveia, o gênero *Avena*, é composto por várias espécies, entre elas *A. sativa* e *A. strigosa* (aveia preta, forrageira). A primeira apresenta-se compostas por três genomas, como em *T. aestivum*, cujo número somático de cromossomos perfaz 42. Entretanto, o número pode variar entre diploides e tetraploides. Os genomas são classificados por A, C e D nas diversas espécies (LOSKUTOV, 2007). Por sua vez, as espécies *A. fatua* e *A. sterilis* são hexaploides, indicando possibilidade de introgressão com *A. sativa*.

Estudos com a espécie tetraploide *A. moroccana* (2n=4x=28, genomas AACC) indicam uma ligação evolucionária entre as diploides com a hexaploide *A. sativa* L. (2n=6x=42, genomas AACCDD). Os genomas A e C ocorrem em todos os níveis de ploidia, exceto as hexaploides. Cruzamentos entre *A. strigosa* (AsAs) e *A. eriantha* (CpCp) originaram um alotetraploide que cruza com *A. morocana*. Isso evidencia a relação evolutiva dessa espécie com *A. sativa* (LEGGET, 1998).

Portanto, da mesma forma que nos outros cereais com número básico n=7, as formas silvestres e aparentemente distantes são importantes na conservação de germoplasma em *Avena*.

Sorgo

Em sorgo, ocorre situação semelhante no gênero *Sorghum*. As implicações são diretamente relacionadas ao melhoramento genético. Sempre que se pensa utilizar os parentes silvestres, na busca por genes de interesse, surge a barreira de híbridos interespecíficos, com ploidia di-

ferente. Um exemplo é quando se cruza *S. bicolor* (sorgo cultivado), que é diploide (2n=20), com *S. halepense* ou *S. vulgare* var. *sudanense*, ambos tetraploides. No produto dos cruzamentos, há redução de ploidia, resgatando o *S. bicolor*. Esses estudos têm demonstrado que a especiação no gênero *Sorgum*, originando fenotipos altamente divergentes, torna-se efetiva mais por barreiras de ploidia do que por diferenças genômicas (DWEIKAT, 2005).

Na conservação de germoplasma, as espécies do gênero Sorgum, de ploidia menor (2n=10) e maior (2n=40), são úteis no estudo filogenético do *S. bicolor* e na obtenção de variabilidade genética, tendo impacto no melhoramento genético para atender às especificidades dos sistemas produtivos. Como nos demais cereais, as características morfológicas relevantes na caracterização de germoplasma relacionam-se ao tipo, cor, tamanho e composição do grão, tipo e tamanho da inflorescência, comprimento, espessura e coloração da folha e suas estruturas, tamanho de planta e maturação.

Espécies Menos Exploradas

Das espécies de cereais menos explorados ou pouco conhecidos além dos centros de origem, encontram-se o tef (*Eragrostis tef*), a setária ou painço português (*Setaria italica*), o painço (*Panicum milliaceum*) e o milheto dedo (*Eleusine coracana*). O tef é uma espécie alotetraploide, à semelhança de *T. durum*. Há inúmeras espécies do gênero *Eragrostis*, muitas diploides, ensejando o cruzamento aquelas que possuem genomas afins.

Das espécies que hibridam facilmente com tef encontram-se *E. pilosa* e *E. cilianensis*, cujo número básico de cromossomos é 10 (2n = 4x = 40), criando oportunidade para introduzir variabilidade no germoplasma. A setária é uma espécie diploide, relacionada às tetraploides, como *S. viridis*. Os cruzamentos entre elas são possíveis, mediante a duplicação

de *S. italica* com colchicina, resultando híbridos férteis (AHANCHEDE et al., 2004). Esse caso demonstra o inverso do que ocorreu com outros cereais, como aveia, centeio e trigo, que evoluíram de formas genômicas simples. O painço é igualmente uma espécie alopoliploide, com grandes oportunidades de cruzamentos interespecíficos, da mesma forma que *E. coracana*. Nesta o número básico de cromossomos é de nove (2n=4x=36) e comum a outras espécies do mesmo gênero.

Ampliação dos estudos é necessária para a conservação dessas e outras espécies menos exploradas. Contudo, percebe-se que há muitas experiências adquiridas com os cereais conhecidos, como trigo e milho que podem ser úteis na conservação de germoplasma.

Diversidade e Recursos Genéticos em Pseudocereais

Os pseudocereais são assim denominados porque a composição da semente assemelha-se à dos cereais, com ausência de glúten. O amaranto (*Amaranthus* spp., Amaranthaceae), a quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd., Chenopodiaceae) e o trigo sarraceno (*Fagopyron esculentum*, Polygonaceae) são plantas com extraordinário potencial agrícola e alimentar. Inúmeros produtos podem ser derivados como farinhas, cereais matinais e massas, como fonte de proteína de alto valor biológico, comparável à caseína do leite. Constituem alternativas dietéticas de baixo colesterol. Sua importância cresce, com oportunidades de mercado, diversificando a agropecuária (SPEHAR, 2003).

As principais espécies de amaranto granífero (*Amaranthus* caudatus, *A. cruentus*, *A. hypochondriacus*.) foram domesticadas no Peru e México (BRENNER et al., 2000). Distinguem-se das espécies silvestres *A. spinosus*, *A. hybridus*, *A. blitum* e *A. viridis*, associadas aos cultivos anuais no Cerrado. A quinoa, originária dos Andes, distingue-se de outras espécies silvestres do mesmo gênero, tendo sido domesticada há cerca de 5.000 anos (SPEHAR, 2004). O trigo sarraceno, originário da Ásia Cen-

tral, é sensível ao fotoperíodo e à temperatura, na floração e no amadurecimento, ainda que apresente grande diversidade. Igualmente, na natureza, encontram-se espécies silvestres do mesmo gênero. Em *F. esculentum*, há polinização cruzada obrigatória, por efeito de heteromorfismo floral e incompatibilidade esporofítica (MARSHALL, 1980). Os estudos sobre germoplasma têm se concentrado em quinoa e amaranto, os quais serão apresentados maiores detalhes.

Variedades e populações de amaranto, quinoa e trigo sarraceno foram introduzidas no Brasil, passando por caracterização agronômica e seleção. A partir desse material, foram selecionadas 700, 1.100 e 240 populações e progênies, respectivamente, com: (i) ausência de acamamento, sementes pretas e espinhos (amaranto); (ii) presença ou ausência de saponina e qualidade de sementes (em quinoa); (iii) precocidade e rapidez de crescimento (trigo sarraceno). Vale acrescentar que, nessas espécies, as variações são grandes quanto à: planta (coloração da folha e do caule e altura), semente (tamanho e coloração), inflorescência (tipo, tamanho e coloração) e ciclo (numero de dias entre a emergência das plantas e a maturação).

Realizou-se análise de diversidade genética e selecionaram-se indivíduos nas variedades e populações de amaranto e quinoa; a precocidade no germoplasma de trigo sarraceno limitou a produção de grãos e biomassa, requerendo seleção adicional, com a inclusão de genótipos com menor sensibilidade ao fotoperíodo.

Quinoa

Ecótipos e características

A quinoa é uma planta anual com ciclo variável, em função da latitude e altitude. Nas regiões onde é cultivada, apresenta os seguintes ecotipos (TAPIA, 1997): (a) vales – cultivada nos vales andinos, ramificada, robusta, com longo período de crescimento; (b) altiplano – das

regiões que margeiam o Lago Titicaca, com ciclo curto e menor altura de plantas; (c) áreas salinas – semelhantes às do altiplano, com alto teor de saponina; (d) baixas altitudes – encontradas no centro-sul chileno, sensível ao fotoperíodo, amadurecem quando os dias encurtam; (e) subtropicais – encontradas nas encostas orientais dos Andes, com adaptabilidade a climas com temperaturas médias em torno de 20 °C; (f) por último, acrescenta-se a quinoa tropical, produto da seleção em ambiente de Cerrado. Esta se encontra na primeira fase de seleção em ambientes tropicais (SPEHAR, 2003). Em sua adaptação ao cultivo no Brasil, tem-se objetivado tolerância a estresses (seca, acidez do solo, elevadas temperaturas) e rendimento.

A quinoa é definida, de acordo com tipo de inflorescência, em amarantiforme e glomerulada; esta última condicionada por alelo dominante (GANDARILLAS, 1967). Podem ainda ser laxas ou compactas.

O grão, fruto do tipo aquênio – semelhante ao arroz–, amadurece enquanto a planta seca, o que permite colheita mecanizada (WAHLI, 1990). Os frutos, pequenos, achatados e sem dormência, constituem o material colhido e são tratados como sementes (TAPIA, 1997). Quando amadurecem, apresentam rápida germinação na presença de umidade (SPEHAR; SANTOS, 2002). As sementes podem apresentar saponina, um detergente natural, de sabor amargo e indesejável ao consumo. A obtenção de cultivares sem saponina torna-se possível, pois a característica é facilmente eliminada por seleção, sendo condicionada por um par de genes dominantes (SPEHAR; SANTOS, 2002).

Constituição genômica e modo de reprodução

O número somático em quinoa é $2n = 4x = 36$ e os cromossomos são arranjados em nove grupos de quatro homólogos. Portanto, a quinoa é um alotetraploide (GANDARILLAS, 1976). Provavelmente se originou de duas diferentes espécies, não identificadas na natureza, podendo ser ancestrais extintas. Apresenta considerável variabilidade genética nas características de interesse agronômico (SPEHAR; SANTOS, 2002).

A espécie, em sua evolução, desenvolveu mais de uma forma reprodutiva. Em quinoa, podem ocorrer autoincompatibilidade,ou seja, em uma mesma planta,há flores femininas e hermafroditas, além de cleistogamia. A proporção de flores hermafroditas pode variar entre 2% a 99% (REA, 1969). A ocorrência de flores femininas e hermafroditas é altamente influenciada pelo ambiente e favorece a polinização cruzada (AGUILAR, 1980).Contudo esta é mais frequente em situações ambientais diferentes da região de origem, em contraste com a autofecundação, por clestogamia, que pode ser fixada em variedades localmente adaptadas (SPEHAR, 2001).

A quinoa apresenta um comportamento de segregação diploide (alotetraploide). Com segregação mendeliana, torna-se possível, por marcadores, avaliar a ocorrência de cruzamentos naturais (SPEHAR, 2001). A taxa de polinização cruzada é variável, influenciada pelo ambiente, e depende da coincidência no florescimento e da proximidade entre plantas. No Cerrado, pode atingir até 30%, enquanto, no ambiente de origem (altiplano Boliviano), mostrou ser de 6% entre variedades comerciais (SPEHAR, 2001).

A quinoa é classificada como autógama predominante; porém os cruzamentos naturais têm implicações na experimentação e na multiplicação de linhagens selecionadas. Por essa razão, torna-se necessário um isolamento dos campos e o uso de blocos intercalados, na experimentação, para prevenir cruzamentos (SPEHAR et al., 2001).

Características fenotípicas

A quinoa apresenta variações em características agronômicas como velocidade de crescimento, acamamento, reação ao fotoperíodo, ramificação do caule e da inflorescência, indeiscência do perigônio (estrutura derivada do cálice que envolve o fruto) e das sementes (frutos), maturação, número de dias entre emergência e maturação, rendimento de grãos e de biomassa, qualidade e tamanho de variando entre 1,3 g/1000 a 6,5 g/1000 (SPEHAR, 2003).

Uso de marcadores na identificação de híbridos e conservação

As hibridações podem ocorrer de forma espontânea ou controlada. Usam-se marcadores como cor da semente, do caule, da folha, pecíolo e pedúnculo (colorido dominante sobre verde), tipo e cor da inflorescência (colorida dominante sobre amarela), número de dentes da folha, presença (dominante) ou ausência de saponina (SPEHAR, 2003).

Resposta ambiental e correlações entre caracteres morfológicos

As primeiras variedades, uniformizadas para características morfológicas, apresentam ciclos entre 90 a 130 dias, da emergência à maturação fisiológica, com considerável produção de biomassa e rendimento de até 3,0 t/ha, em semeadura sucessiva à soja (SPEHAR; SOUZA, 1993).

Variabilidade genética entre e dentro de linhagens de mesmo ciclo tem sido identificada e confirma a existência de polinização cruzada, de acordo com o observado no Cerrado e em outros ambientes (REA, 1969; ALVAREZ; RUTTE, 1990; SPEHAR, 2001).

As combinações que geraram genótipos tardios, nas condições do Brasil Central, são atribuídas à maior frequência gênica para prolongamento do período reprodutivo e menor exigência às baixas temperaturas. Resultados de pesquisa mostram que populações de menores altitudes e latitudes geram genótipos com ciclos mais adaptados aos sistemas produtivos (SPEHAR, 2002).

As variações têm sido avaliadas por diferenças em período vegetativo (dias entre a emergência e a floração), período reprodutivo (dias entre a floração e a maturação), altura de planta, tamanho e tipo de inflorescência, cor do pedúnculo e do caule, produção de grãos, qualidade de sementes e conteúdo de saponina (SPEHAR, 2003).

Coeficientes de correlação foram calculados (Tabela 1) para verificar a relação entre as características: ciclo da planta (CP), altura da planta

(AP), produção de grãos (PG), produção total de biomassa (PTB), comprimento da inflorescência (CI), diâmetro de inflorescência (ID), cor do caule (CC) e diâmetro do caule (DC). Exceto a cor do caule, as demais podem se classificar como componentes de rendimento, tendo impacto na seleção.

Tabela 1. Coeficientes de correlação para as características ciclo da planta (CP), altura de planta (AP), comprimento da inflorescência (CI), diâmetro (DI) e tipo (TI), cor do caule (CC), produção de grãos (PG), produção de biomassa total (PTB), diâmetro de caule (DC) e índice de colheita (IC).

Característica	AP	CI	DI	TI	PG	PTB	DC	IC
Inverno								
CP	0,514*				0,228	0,397*		0,657*
AP					0,688*	0,731*		0,604*
PTB								0,401*
PG						0,845*		0,406*
Primavera								
CP	0,837*	0,608*	0,548*		0,747*	0,489*	0,715*	0,715*
AP		0,649*	0,440*		0,691*	0,629*	0,757*	0,636*
CI			0,530*		0,700*	0,559*	0,760*	0,666*
DI				0,079	0,571*	0,533*	0,461*	0,536*
CC				0,124	-0,051			-0,118
PG								0,999*
DC					0,616*	0,407*		0,604*
PTB					0,633*			0,489*
TI					0,308			0,406*

*Valores estatisticamente significativos (p=0,05).

O ciclo da planta é maior na entressafra, porém, em ambos, reduz-se em relação ao da região andina e Europa (SANTOS, 1996; JACOBSEN *et al.*, 1996). As plantas mostram-se mais altas do que na região andina, onde o ciclo é muito mais longo, devido ao efeito de baixas temperaturas (ESPÍNDOLA; GANDARILLAS, 1986). O rendimento correlaciona-se com altura de plantas, comprimento e diâmetro da inflorescência e ci-

clo da planta (Tabela 1). O comprimento da inflorescência mostrou-se positivamente associado à produção de grãos na semeadura de verão. A seleção por essa característica, sob temperaturas elevadas, pode resultar em genótipos de elevado rendimento. Não se verificou associação entre rendimento e tipo de inflorescência (amarantiforme ou glomerulada), independente da região (GANDARILLAS, 1976; SANTOS, 1996).

Amaranto

Os diversos tipos de amaranto pertencem à família Amarantaceae, a qual se divide em 70 gêneros e mais de 850 espécies. O gênero *Amaranthus* apresenta mais de 60 espécies, destacando-se: *Amaranthus caudatus*, *A. hypochondriacus*, *Amaranthus cruentus*, *A. hybridus*, *A. tricolor*, *A. blitum*, *A. dubius* e *A. viridis* (MUJICA-SÁNCHEZ; BERTI, 1997).

Há, entre eles, discrepância e dificuldades de definição, devido à semelhança, distribuição geográfica e aos critérios empregados pelos taxonomistas. As evidências baseadas em experimentos com isoenzimas e marcadores moleculares apontam para uma origem comum das espécies graníferas da América: o *A. hybridus* (CHAN; SUN, 1997).

Principais características e fenologia

O caule, cilíndrico e anguloso, com grossas estrias longitudinais, apresenta comprimento variável e espessura que diminui da base ao ápice. As cores são variáveis, em geral coincidentes com as das folhas, ainda que possam ocorrer de forma independente.

O caule pode ramificar-se, com início na base ou à meia altura. O início se dá na axila das folhas. O número de ramificações é condicionado por fatores genéticos, sendo afetado pela densidade de populacional em que se cultiva.

As folhas são pecioladas, sem estípulas, ovais, elípticas, opostas ou alternas, com nervura proeminente na face abaxial, lisas ou pouco pubescentes, de cor verde ou púrpura (TAPIA,1997).

A inflorescência é formada por panículas, amarantiformes ou glomeruladas, muito vistosas, terminais ou axilares, que podem ser eretas inclinadas ou decumbentes, com cores entre o amarelo, alaranjado ou dourado, café, vermelho, rosado e roxo.

As plantas são monoicas na maior parte das espécies de amaranto (BRENNER et al., 2000); porém, pelo tipo de polinização, são predominantemente autógamas, com variações no percentual de polinização cruzada.

O fruto é uma cápsula pequena que se denomina pixídio unilocular. Na maturação, abre de forma transversal, deixando cair o opérculo, expondo a parte inferior ou urna, onde se encontra a semente (BRENNER et al., 2000).

A semente é pequena, lisa, brilhante, de 1 mm a 1,5 mm de diâmetro, ligeiramente aplanada, de cor bege ou branca, amarelada, dourada, vermelha, rosada, roxa, marrom e preta. O número de sementes/g varia entre 3.000 a 1.000 (SPEHAR, 2004). No grão se distinguem quatro partes importantes: episperma, cobertura seminal ou casca, constituída por uma camada de células muito finas; endosperma ou segunda camada; embrião, formado pelos cotilédones, rica em proteínas; e perisperma, rica em amidos (IRVING et al., 1981).

Crescimento e desenvolvimento

Na fase de crescimento ou vegetativa, define- se o número de nós no caule ou haste principal, onde se encontram as folhas expandidas, inicialmente opostas e depois alternas. As plântulas têm reduzido crescimento inicial. A partir das primeiras folhas alternas, crescem de forma exponencial, definindo-se o seu número até o início da fase reprodutiva (diferenciação floral).

A fase reprodutiva inicia quando o ápice da inflorescência (panícula) torna-se visível no extremo do caule, entre 45 a 70 dias após a emer-

gência, com cerca de 2 cm de comprimento. Quando as inflorescências apresentam entre 10 cm a 15 cm de comprimento, ocorre a antese. Pelo menos uma flor por planta encontra-se aberta, mostrando os estames separados e o estigma completamente visível. Em *A. caudatus*, as flores hermafroditas são as primeiras a abrir. Em geral a antese começa pelo ponto intermediário entre o eixo da panícula, até as ramificações laterais da mesma. Quando a antese se completa em pelo menos 95% do eixo central da panícula, os grãos se formam e enchem, até atingir a maturação fisiológica. Esta ocorre quando a panícula muda de coloração. (SPEHAR, 2004).

Constituição genômica

A maior parte dos amarantos apresenta n = 16 ou n = 17; porém *A. dubius* constitui exceção, com n = 32 (BRENNER et al., 2000). As espécies de amaranto são classificadas como paleo-alotetraploides, com base no pareamento de seus cromossomos (GREIZERSTEIN; POGGIO, 1995). Os estudos sobre o comportamento na meiose ainda são necessários para elucidar as incompatibilidades de cruzamentos (BRENNER et al., 2000). As fórmulas genômicas de algumas espécies estão listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Fórmulas genômicas para amaranto granífero e algumas espécies silvestres relacionadas.

Espécie	Fórmula genômica	Número básico (n)
A. caudatus	$A_1A_1B_1B_1$	16
A. cruentus	$A_2A_2B_2B_2$	17
A. hypochondriacus	$A_4A_4B_4B_4$	16
A. montegazzianus	$A_3A_3B_3B_3$	16
A. quitensis	AABB	16
A. hybridus	$A_5A_5B_5B_5$	16
A. spinosus	A_6A_6 CC	17

Fonte: Brenner et al., 2000.
Os grupos genômicos A e B apresentam pequenas variações, indicadas pelo índice; exceto para B_2 e C, o número básico X = 8.

As três espécies graníferas – *A. caudatus*, *A. cruentus* e *A. hypochondriacus* – apresentam alguma compatibilidade com *A. arenicola*, *A. australis*, *A. bigelovii*, *A. brandegei*, *A. cannabinus*, *A. celosioides*, *A. dubius*, *A. floridanus*, *A. greggii*, *A. hybridus*, *A. palmeri*, *A. pawellii*, *A. quitensis*, *A. retroflexus*, *A. rudis*, *A. scariosus*, *A. tuberculatus*, *A. spinosus*, *A. viscidulus e A. watsoni* (BRENNER et al., 2000). Portanto, novas combinações podem ser obtidas em cruzamentos visando sementes maiores, tolerância a estresses abióticos e resistência a doenças e pragas. Acessos de *A. caudatus* cruzam com *A. hipochondriacus*, produzindo híbridos férteis, e ambos não cruzam com *A. cruentus* (WEBER; KAUFFMAN, 1990). Barreiras dentro de *A. caudatus* foram observadas (COONS, 1981), enquanto cruzamentos de *A. hybridus* e *A. hypochondriacus* somente foram viáveis, quando o primeiro foi o genitor materno (PAL et al., 1982).

O emprego de marcadores moleculares contribuirá para ampliar o conhecimento sobre a base genética de amaranto. Agrupamentos por similaridade morfológica e molecular permitirão explorar o germoplasma com potencial de adaptabilidade, no apoio a programas de melhoramento genético (BRENNER et al., 2000).

Constituição gênica

Pigmentos

As cores de vermelho, laranja (dourado) e amarelo são devidas a várias expressões de betacianina (CAI et al., 1998). Esse pigmento recebe o nome de amarantina. Em amaranto, pelo menos seis genes que determinam a expressão de cor foram identificados (KULAKOW et al., 1985); incluídas as variações, a herança genética para pigmento passa a ser de natureza quantitativa.

Cor de semente

As segregações para cor de semente em amaranto mostram que a característica é condicionada por até dois pares de genes (KULAKOW

et al., 1985), com alelismo múltiplo (preto dominante sobre clara) e um loco adicional para cor marrom, em alguns cruzamentos (KULAKOW; JAIN, 1987). Em *A. caudatus*, alguns genótipos apresentam embriões com pigmento rosa. Essa característica é condicionada por um gene; a intensidade é afetada por modificadores (KULAKOW, 1987). Pode ser usado como marcador, em cruzamentos.

Folha

As folhas apresentam manchas, que podem ser ovais (um par de genes), ou em forma de "v" (dois pares de genes (KULAKOW et al., 1985). No amaranto granífero, as manchas-foliares são encontradas em *A. hypochondriacus*.

Amido

O tipo de amido do perisperma é determinado por um par de genes (OKUNO; SAKAGUCHI, 1982). Os tipos são classificados como opacos e translúcidos, cerosos e não-cerosos, transparentes e não-transparentes (SAKAMOTO, 1997). Opacos e translúcidos são mais fáceis de distinguir com auxílio de luz.

Inflorescência

A morfologia da inflorescência é variável. Crescimento determinado é característica encontrada em *A. caudatus* e A. *hypochondriacus*. Em caudatus, tipo *edulis*, o crescimento determinado é condicionado por um par de genes, em que o indeterminado é dominante (KULAKOW, 1987). O caráter decumbente com utilidade na ornamentação é condicionado por dois pares de genes, com modificadores.

Precocidade

A maturação precoce é condicionada por um par de genes, no cruzamento de *A. cruentus* e *A. retroflexus*; com um par de genes dominantes para alta precocidade (KULAKOW; JAIN, 1985). Essa característica pode ser empregada no melhoramento, obtendo-se várias gerações em

um período curto e na obtenção de variedades precoces e produtivas no cultivo em sucessão.

Por essas diferenças na constituição genômica e gênica, percebe-se que ainda há muito a se estudar para melhor entender e manipular o germoplasma existente, para melhor adaptá-lo ao cultivo comercial nas diversas formas de interesse para a humanidade.

Resposta ambiental e correlações entre caracteres morfológicos

De maneira semelhante à quinoa, variabilidade genética tem sido identificada a partir de cruzamentos naturais, confirmando a existência de polinização cruzada (BRENNER et al., 2000).

As variações têm sido avaliadas por altura de planta, tamanho e tipo de inflorescência, cor da inflorescência e do caule, produção de grãos, qualidade de sementes (SPEHAR, 2004).

A correlação significativa entre os componentes de rendimento, como altura de plantas e comprimento e diâmetro da inflorescência, indica que o germoplasma pode ser melhorado para se atingir níveis de produção econômica.

Obtenção e manutenção de germoplasma

Os cereais e os pseudocereais apresentam sementes ortodoxas. Isto é, as sementes, ao amadurecerem, perdem umidade, mantendo-se viáveis, na dependência das condições de armazenamento. Sob baixa umidade (10% a 13%) e temperatura (<10 ºC), pode ser mantida a viabilidade das sementes por longo prazo.

Há, no Brasil, bancos de germoplasma em apoio a programas de melhoramento dos cereais que têm sido importantes para a nossa agricultura, como milho, sorgo, milheto, trigo, cevada, centeio e arroz. Além das coleções locais, existe intercâmbio com instituições internacionais

para o trabalho cooperativo. Os demais cereais, com pequena expressão, ainda carecem de ampliação do germoplasma. Entre eles, incluem-se o tef, o milheto, *E. coracana*, o painço, a setária e outros que nem sequer foram cogitados de introdução em nossa agricultura.

Amostras de sementes do germoplasma, composto por linhagens, progênies e populações, têm sido mantidas há pelo menos 15 anos, com viabilidade. Testes periódicos confirmam a manutenção de germinação e vigor das sementes, mostrando que se pode manter por longo prazo.

Considerações Finais

Os cereais e pseudocereais representam um grupo de plantas da maior importância para a agricultura brasileira e mundial. Participam dos sistemas produtivos e contribuem para o seu aperfeiçoamento, em rotação, diversificando a produção agropecuária e os alimentos. A obtenção de germoplasma é a base que sustenta todo o arcabouço de ciência e tecnologia para aprimorar a sua produção. A caracterização baseia-se, inicialmente, dos dados de passaporte. Isto é, os acessos, correspondendo a populações e linhagens, são catalogados por seu local de origem (latitude, longitude, altitude e condições climáticas e de solo) e informação sobre as suas associações às comunidades e os respectivos usos.

Esses dados servem de norteadores sobre o que se busca nas coleções. Assim, em espécies de polinização aberta, total ou parcial, como milho, milheto, amaranto, quinoa e trigo sarraceno, a origem pode ser indicativa de variabilidade para fatores condicionantes de solo (acidez, toxidez de alumínio, manganês) e de clima (exposição a períodos de seca ou excesso de umidade) nas populações. Nas espécies autógamas, os acessos podem corresponder a inúmeras linhas puras, com igual indicativo de variabilidade.

Nesse material, pode-se obter resistência ou tolerância aos estresses, com reflexo na produção e na qualidade de sementes. Quanto aos demais

caracteres, classificados de morfológicos, têm importância para diferenciar acessos os relativos à coloração da flor, do grão, da inflorescência, do caule, da folha, do pedúnculo, do pedicelo. Tamanho de grão, de inflorescência, de folha, ângulo de folha em relação ao caule, número de dias para a maturação são igualmente importantes para apoio ao melhoramento, como marcadores morfológicos e fenotípicos.

Por último, os caracteres de avaliação, como rendimento e estabilidade produtiva em relação aos ambientes, correspondem à fase mais avançada e que implica diretamente no melhoramento genético. Tanto cereais como pseudocereais dependem de se caracterizarem e avaliarem os acessos componentes das coleções de germoplasma.

Estas, em geral, são muito grandes, como os exemplos de milho e milheto, no texto. Para derivar coleções nucleares, ou seja, coleções-amostra, que contêm a variabilidade sem repetições desnecessárias, utilizam-se marcadores. Estes podem ser associados a rendimento, no exemplo de milho, ou moleculares.

Tanto em cereais como pseudocereais derivam-se coleções usadas pelos melhoristas. Estas visam atender aos programas específicos. Assim, é desejável que, no melhoramento para resistência a uma determinada doença, condicionada por vários genes, como ferrugem (*Puccinia* spp.) em cereais, a coleção seja ao mesmo tempo representativa da variabilidade para características agronômicas e o patógeno em questão. Tamanho de grão, por exemplo, em quinoa, pode ser condicionado por vários genes e o procedimento é semelhante. A tarefa de gerar variedades comerciais com as características desejadas somente será atingida se o germoplasma for representativo.

Os exemplos apresentados estão longe de esgotar o tema. Porém, o intuito foi de mostrar os fatores preponderantes para cada espécie. Procurou-se enfatizar a origem das espécies cultivadas, silvestres, afins e ancestrais; a importância de se conhecer o modo de reprodução, a constituição genômica e as afinidades entre espécies; quais características

fenotípicas e de rendimento que são úteis de se identificar nos acessos; quais os marcadores que, de um modo geral, auxiliam na identificação de híbridos e na conservação; as correlações entre caracteres morfológicos e o seu uso no manuseio da variabilidade.

Referências

ABADIE, T.; MAGALHÃES, J. R.; CORDEIRO, C. M. T.; PARENTONI, S. N.; ANDRADE, R. V. **Obtenção e tratamento analítico de dados para organizar coleção nuclear de milho**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1997. (EMBRAPA-CENARGEN. Comunicado Técnico, 20).

AGUILAR, A. P. C. **Identificación de mecanismos de androoesterilidad, componentes de rendimiento y contenido proteico en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.).** 1980. 94 f. Dissertação (Mestrado). Universidad Agraria La Molina. Lima, Peru.

AHANCHEDE, A.; POIRIER-HAMON, S.; DARMENCY, H. Why no tetraploid cultivar of foxtail millet? **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 51, n. 3, p. 227-230, 2004.

ALVAREZ, M.; VON RUTTE, S. Genética. In: WAHLI, C. (Ed.). **Quínua:** hacia seu cultivo comercial. Quito: Latinreco, 1990. p. 33-60.

BHATTACHARJEE, R.; BRAMEL, P.; HASH, C.; KOLESNIKOVA-ALLEN, M.; KHAIRWAL, I. Assessment of genetic diversity within and between pearl millet landraces. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, n. 5, p. 666-673. 2002.

BRENNER, D. M.; BALTENSPERGER, D. D.; KULAKOW, P. A.; LEHMANN, J. W.; MYERS, R. L.; SLABBERT, M. M.; SLEUGH, B. B. Genetic Resources and Breeding of *Amaranthus*. **Plant Breeding Reviews,** v. 19, p. 227-286, 2000.

CAI, Y.; SUN, M.; WU, H.; HUANG, R.; CORKE, H. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* species. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, p. 2063-270, 1998.

CHAN, K. M.; SUN, M. Genetic diversity and relationships detected by isozyme and RAPD analysis of crop and wild species of *Amaranthus*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 865-873, 1997.

CHEBOTAR, S.; RÖDER, M. S.; KORZUN, V.; SAAL, B.; WEBER, W. E. ; BÖRNER, A. Molecular studies on genetic integrity of open-pollinating species

rye (*Secale cereale* L.) after long-term genebank maintenance **Theoretical and Applied Genetics**, v. 107, n. 8, p. 1469-1476. 2003.

COONS, M. P. O gênero *Amaranthus* em Minas Gerais. **Experienti ¾**, Viçosa, MG, v. 27, n. 6, p. 115-158, 1981.

DOEBLEY, J. The genetics of maize evolution. **Annual Review of Genetics**, v. 38, p. 37-59, 2004.

DWEIKAT, I. A Diploid, interspecific, fertile hybrid from cultivated sorghum, *Sorghum bicolor*, and the common johnsongrass weed s*orghum halepense*. **Molecular Breeding**, v. 16, n. 2, p. 93-101, 2005.

ESPÍNDOLA, G.; GANDARILLAS, H. Estúdio de caracteres correlacionados y sus efeectos sobre el rendimiento en quinua. In: GANDARILLAS, H. (Ed.). **Estructura anatómica de los organos de la planta de quínua/estúdio de caracteres correlacionados y sus efectos sobre el rendimiento en quínua/ hibridaciones entre espécies de la subsección cellulata del genero *Chenopodium***. Bolívia: Ministério de Asuntos Campesinos y Agropecuários: Instituto Boliviano de Tecnologia Agropecuária: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarollo, 1986. p. 19-22.

GANDARILLAS, H. Genética y origen de la quínua (*Chenopodium quinoa*). **Boletín de Genética del Instituto de Fitotecnia,** v. 9, p. 3-14, 1976.

GANDARILLAS, H. Observaciones sobre la biología reproductiva de la quinua. **Sayaña**, v. 5, p. 26-29, 1967.

GAO, L. Z.; ZHANG, C. H.; JIA, J. Z. Cross-species transferability of rice microsatellites in its wild relatives and the potential for conservation genetic studies. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 52, n. 7, p. 931-940, 2005.

GREIZERSTEIN, E. J.; POGGIO, I. Meiotic studies of spontaneous hybrids in amaranth: Genome analysis. **Plant Breeding**, v. 114, p. 448-450, 1995.

IRVING, D. W.; BETSCHART, A. A.; SAUNDERS, R. M. Morphologic studies on *Amaranthus cruentus*. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1170-1173. 1981.

JACOBSEN, S. E.; HILL, J.; STOLEN, O. Stability of quantitative traits in quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Theoretical and Appplied Genetics**, v. 93, p. 110-116, 1996.

KIESSELBACH, T. A.; PETERSEN, N. F. The Chromossome number of maize. **Genetics**, v. 10, p. 80-85, 1925.

KULAKOW, P. A. Genetics of grain amaranths: II. the inheritance of determinance, panicle orientation, dwarfism, and embryo color in *Amaranthus caudatus*. **Journal of Heredity**, v. 78, p. 293-297, 1987.

KULAKOW, P. A.; HAUPTLI, H.; JAIN, S. K. Genetics of grain amaranths. I. Mendelian analysis of six color characteristics. **Journal of Heredity**, v. 76, p. 27-30, 1985.

KULAKOW, P. A.; JAIN, S. K. Genetics of grain amaranths: IV. variation in early generation response to selection in *Amaranthus cruentus* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 74, p. 113-120, 1987.

KULAKOW, P. A.; JAIN, S. K. The inheritance of flowering in *Amaranthus* species**. Journal of Genetics**, v. 64, p. 85-100, 1985.

LEGGET, J. M. Chromosome and genomic relationships between the diploid species *Avena strigosa*, *A. eriantha* and the tetraploid *A. maroccana*. **Heredity**, v. 80, n. 3, p. 361-363, 1998.

LOSKUTOV, O. On evolutionay pathways of *Avena* species. **Genetic resources and crop evolution**. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/t515615l61877h45/>.

MARSHALL, H. G. Buchwheat. In: FEHR, W. R.; HADLEY, H. H. (Ed.). **Hybridization of crop plants**. Madison: American Society.of Agronomy, 1980. p. 215-224.

MARTEL, E.; DENAY D.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; BROWN, S.; SARR, A. Genome size variation and basic chromosome number in pearl millet and fourteen related *Pennisetum* species. **Journal of Heredity**, v. 88, p. 139-143, 1997.

MUJICA-SÁNCHEZ, A.; BERTI, M. **El cultivo del Amaranto (*Amaranthus* spp.): Producción, Mejoramiento Genético y Utilización**. Roma: FAO. Red de Cooperación Técnica en Producción de Cultivos Alimenticios, 1997. 145 p.

MUKAI, Y.; NAKAHARA, Y.; YAMAMOTI, M. Simultaneous discrimination of the three genomes in hexaploid wheat by multicolor fluorescence in sity hybridization using total genomic and highly repeated DNA probes. **Genome**, v. 36, n. 3, p. 489-494, 1993.

NAREDO, M. E. B.; JULIANO, A. B.; LU, B-R.; JACKSON, M. T. Hybridization of AA genome rice species from Asia and Australia I. Crosses and development of hybrids. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 44, n. 1, p. 17-23, 1997.

NASS, L. L. NISHIKAWA, M. A. N.; FÁVERO, A. P.; LOPES, M. A. L. Pré-Melhoramento de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 685-716.

OKUNO, K.; SAKAGUCHI, S. Inheritance of starch characteristics in perisperms of Amaranthus hypochondriacus. **Journal of Heredity**, v. 73, p. 467, 1982.

ORABI, J.; BACKES, G.; WOLDAY, A.; YAHYAOUI, A.; JAHOOR, A. The Horn of Africa as a centre of barley diversification and a potential domestication site. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 14, n. 6, p. 117-1127, 2007.

PAL, M.; PANDEY, R. M.; KHOSHOO, T. N. Evolution and improvement of cultivated amaranths: IX cytogenetic relationship between the two basic chromosome numbers. **Journal of Heredity**, v. 73, p. 353-358, 1982.

POLLAK, L. M.; SALHUANA, W. The germplasm enhancement of maize (GEM) project: private and public sector collaboration. In: COOPER, H. D. (Ed.) **Broadening the genetic base of crop production**. Wallingford: Cabi; Rome: IPGRI: FAO, 2001. p. 329-329.

PONCET, V.; LAMY, T. F.; ENJALBERT, J.; JOLY, H.; SARR, A.; .ROBERT, T. Genetic analysis of the domestication syndrome in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L., Poaceae): inheritance of the major characters. **Heredity**, v. 81, n. 6, p. 648-658.

REA, J. Biología floral de la quinua (*Chenopodium quinoa*). **Turrialba**, v. 19, p. 91-96, 1969.

SAKAMOTO, S. Origin and ethonobotany of glutinous perisperm starch found in a species of grain amaranths, *Amaranthus hypochondriacus* L. **Intercultural Studies**, v. 1, p.124-133, 1997.

SALHUANA, W.; JONES, Q.; SEVILLA, R. The Latin American Maize Project: model for rescue and use of irreplaceable germplasm. **Diversity**, v. 7, n 1/2, p. 40-42, 1991.

SANTOS, R. L. B. **Estudos iniciais para o cultivo de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) nos Cerrados**. 1996. 129 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília, DF.

SHULL, G. H. What is "heterosis"? **Genetics**, v. ***33***, p. 439-446, 1948.

SPEHAR, C. R. (Ed.). **Amaranto**: opção para diversificar a agricultura e os alimentos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 145 p.

SPEHAR, C. R. **Quinoa**: alternativa para a diversidade agrícola e alimentar. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 104 p.

SPEHAR, C. R. Utilização da quinoa como alternativa para diversificar alimentos. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. [**Anais**...]. Uberlândia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal: UFU, 2002. p. 49-58.

SPEHAR, C. R.; PEREIRA, R. C. Convivendo com as plantas daninhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília. Convivendo com as plantas daninhas. Brasília, DF: SBCPD/UNB/ Embrapa Cerrados. 2006. (Resumos).

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. B. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) BRS Piabiru: Alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 889-893, 2002.

SPEHAR, C. R.; SOUZA, P. I. M. Adaptação da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ao cultivo nos cerrados do Planalto Central: resultados preliminares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v. 28, n. 5, p. 635-639, 1993.

SPEHAR, C. R. Cruzamentos naturais e variabilidade genética em quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., 2001, Londrina. [**Anais**...] Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001.

SPEHAR, C. R.; PEREIRA, R. C. Convivendo com as plantas daninhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25. [**Anais**...] Brasília, DF: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2006.

STUTZ, H. On the origin of cultivated rye. **American Journal of Botany**, v. 59, n. 1, p. 59-70, 1972.

TAPIA, M. **Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación**. Santiago, Chile: Oficina Regional de la FAO para la América Latina y Caribe, 1997. 217 p.

TEFERA, H.; PEAT, N. S.; CHAPMAN, G. P. Quantitative genetics in t'ef (*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DESERTIFIED GRASSLANDS. Their biology and management. London: Linean Society Symposium Series, 1992. p. 283-296.

VALKOUN, J. J. Wheat pre-breeding using wild progenitors. **Euphytica**, v. 119, p. 17-23, 2001.

VENCES, J. F.; VAQUERO, F.; GARCIA, P.; PEREZ DE LA VEGA, M. Further studies on phylogenetic relationships in s*ecale*: on the origin of its Species. **Plant Breeding**, v. 98, n. 4, p. 281-291, 1987.

WAHLI, C. **Quínua:** hacia su cultivo comercial. Quito: Latinreco S.A., 1990. 206 p.

WEBER, L. E.; KAUFFMAN, C. S. Plant breeding and seed production. In: NATIONAL AMARANTH SYMPOSIUM, 4. **Perspectives on production, processing and marketing.** Minneapolis, 1990. p. 115-128.

11 Conservação ex situ de Forrageiras de Clima Temperado

Andréa Mittelmann
José Carlos Leite Reis
Caroline Marques Castro

Introdução

Todas as espécies da cobertura vegetal que constituem a parte assimilável pelos animais da biomassa das pastagens naturais são consideradas de vocação forrageira (ABDELKEFI; MARRAKCHI, 2000). Em sua maioria, as espécies forrageiras são gramíneas ou leguminosas, embora existam representantes de outras famílias, como das crucíferas (nabo forrageiro – *Brassica oleracea* L.; colza – *Brassica napus* var. *oleifera*), compostas (girassol – *Helianthus annus* L.) e chenopodiáceas (beterraba forrageira – *Beta vulgaris*). Esse grande conjunto de espécies constitui o que denominamos recursos genéticos forrageiros e pastoris, e sua conservação representa um desafio colossal (ABDELKEFI; MARRAKCHI, 2000). Segundo os autores, também as espécies utilizadas como reserva forrageira, como algumas árvores e arbustos e mesmo as cactáceas em zonas áridas, devem ser incluídas nessa categoria.

As espécies forrageiras podem ser organizadas de acordo com sua origem, em espécies tropicais, subtropicais e de clima temperado. Neste

capítulo, procuramos reunir informações sobre a conservação ex situ de forrageiras de clima temperado com a finalidade de ilustrar os métodos empregados na conservação de forrageiras.

Importância

As forrageiras de clima temperado foram as primeiras a passarem da ocorrência natural para o cultivo, acompanhando o desenvolvimento da pecuária na Europa. O primeiro registro do cultivo de uma espécie forrageira ocorreu com o azevém anual, cultivado desde o século 12 no Piemonte e na Lombardia, em áreas irrigadas (BORRIL, 1976). Entretanto, esse fenômeno é ainda recente, com apenas alguns séculos, se comparados aos cereais, cultivados há alguns milênios. Provavelmente por esse motivo, uma pequena distância separa os recursos genéticos, como um ecótipo resultante de coleta, por exemplo, de uma cultivar melhorada. Essa é uma das particularidades que fazem com que o trabalho com recursos genéticos de forrageiras seja ainda mais crítico e desafiador (BOLLER et al., 2005). Embora pastagens naturais ou seminaturais ainda ocorram em diversos locais, o cultivo apresenta grande importância agronômica nas regiões temperadas, como, por exemplo, na Europa Ocidental, América do Norte e Nova Zelândia (BORRIL, 1976).

No Brasil, a Região Sul, em sua maior parte, apresenta clima diferenciado do restante do País, o qual é classificado como do tipo subtropical (DIAGNÓSTICO, 1990). Esse tipo de clima favorece a adaptação de espécies forrageiras de clima temperado, as quais apresentam, geralmente, alta qualidade para a alimentação de ruminantes. Da mesma forma, a vegetação nativa do tipo campo, que cobre grande parte das áreas, possui espécies de grande interesse forrageiro, muitas delas do tipo subtropical, como é o caso das pertencentes aos gêneros *Paspalum* e *Desmodium*. Recentemente, o Bioma Pampa foi reconhecido como um dos biomas nacionais importantes para conservação, o que poderá dar maior impulso

à pesquisa com espécies forrageiras nativas. Entretanto, nem todas as áreas de ocorrência natural de vegetação do tipo campestre na Região Sul estão contempladas nesses limites, ficando parte delas dentro da área reconhecida como de Mata Atlântica.

A exploração pecuária possui, historicamente, grande importância econômica para a Região Sul, a qual é a segunda principal produtora de leite no País, com uma participação aproximada de 23% da produção nacional, e a terceira maior produtora de carne bovina, com 17% da produção nacional (NEHMI et al., 2005). Assim, uma porção importante da economia encontra-se na dependência das espécies forrageiras. As forrageiras de clima temperado também se adaptam a outras regiões do País, como Sudeste e Centro-Oeste, suprindo as deficiências de forragem no período da seca, com alto potencial de rendimento e qualidade quando irrigadas. Nessas condições, substituem alimentos concentrados de custo elevado para os produtores. Estimativas apontam que, anualmente, cerca de 400 mil cabeças de gado são engordadas em pastagens de inverno (NEHMI et al., 2005), representando um grande potencial de uso de cultivares dessas espécies.

Além disso, tem sido observada, nos últimos anos, principalmente nos países europeus, uma preocupação crescente em relação à segurança alimentar, bem como ao bem-estar animal. Os sistemas de produção baseados principalmente em pastagens, como aqueles predominantemente desenvolvidos no Brasil, representam uma oportunidade de maior aceitação pelos grandes mercados importadores. Assim, torna-se ainda mais interessante a utilização de pastagens de clima temperado para suprir as necessidades alimentares dos animais nos períodos críticos frente às outras opções, valorizando os trabalhos com recursos genéticos e melhoramento.

Além disso, várias dessas espécies possuem usos alternativos. Alguns dos usos tradicionais são em forma de cobertura verde em rotações de culturas ou sob pomares, jardins e gramados esportivos e na conten-

ção de encostas. Ademais, alguns usos estão sendo estudados mais recentemente e tendem a adquirir grande importância, como na recuperação de áreas degradadas e na biorremediação.

Principais Espécies

No Brasil, Reis (1998) relata que mais de 1.800 acessos, compreendendo espécies, variedades, ecótipos e linhagens, foram caracterizados quanto ao seu comportamento na região de terras baixas, pela Embrapa Clima Temperado. Outros trabalhos importantes nesse sentido foram realizados pela Secretaria de Agricultura do Rio Grande do Sul (hoje Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul, Fepagro), Embrapa Pecuária Sul, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. (Epagri) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Entretanto, em sua maioria, os acessos se perderam, devido a dificuldades de infraestrutura e pessoal para realizar a conservação e, principalmente, a renovação de sementes. A aveia preta (*Avena strigosa*), espécie de grande importância, foi estudada mais extensamente e por maior número de instituições, e é aquela com maior número de cultivares disponíveis hoje no País.

Entre as principais forrageiras cultivadas de clima temperado, estão as dos gêneros *Lolium*, *Avena*, *Lotus*, *Medicago e Trifolium*. Essas espécies são exóticas, portanto a maioria dos trabalhos de recursos genéticos visou verificar o comportamento e adaptação de cultivares ou acessos introduzidos de outros países. Algumas espécies nativas foram estudadas no mesmo formato dos Campos de Introdução. Ao trabalhar com espécies nativas, existem dificuldades adicionais, pois, em muitos casos, inexistem informações básicas, como o sistema reprodutivo, número de cromossomos, distribuição da espécie, conservação de sementes e até mesmo a correta classificação botânica. Entre as principais forrageiras nativas que foram consideradas como de bom potencial forrageiro, es-

tão *Bromus auleticus* e algumas do gênero *Adesmia*, com destaque para *Adesmia latifolia* e *Adesmia tristis*. A coleta de germoplasma dessas espécies foi intensificada, em instituições como a Embrapa, UFRGS e Epagri. Trabalhos de caracterização e seleção foram realizados, mas até o momento não resultaram em lançamento de cultivares. Também o gênero *Paspalum* possui trabalhos importantes de coleta na região, tendo avançado para estudos de caracterização e atividades de melhoramento, que atualmente lideradas pela UFRGS.

Uma nova abordagem tem sido utilizada no trabalho com recursos genéticos das espécies exóticas. O trabalho com populações locais (*land races*) procura conservar a variabilidade gerada pelos longos anos decorridos desde a introdução das mesmas, geralmente trazidas por imigrantes europeus há mais de um século. A Embrapa conta com cerca de 200 acessos de azevém anual (*Lolium multiflorum*), a maioria deles de populações locais, e realiza coletas de outras espécies (BARBIERI et al., 2005). Já a Fepagro possui oito acessos coletados em diferentes regiões do Rio Grande do Sul, os quais se encontram caracterizados, inclusive quanto à adaptação a diferentes ambientes (MONTARDO et al., 2004; MONTARDO et al., 2005). A importância da conservação e caracterização dessas populações é ainda maior quando se considera o crescente ingresso de cultivares estrangeiras, aumentando o risco de perda de variedades locais. Exemplos das vantagens de se manter populações locais, devido à melhor adaptação obtida com a seleção natural ao longo dos anos, são abundantes. No início dos programas de melhoramento do azevém perene na Nova Zelândia, populações locais superaram todos os genótipos introduzidos. O grande interesse na comercialização de variedades locais existe devido a qualidades como adaptação e resistência a pragas e doenças, citando-se como exemplo de sucesso a cultivar Ellett (Yates Corporation) (EASTON, 1980). Da mesma forma, para o azevém anual (*Lolium multiflorum*), populações naturalizadas na América do Sul são reconhecidas em todo o mundo como fonte de resistência à ferrugem, uma adaptação desenvolvida por seleção natural.

Número de Acessos

Entre os principais bancos de germoplasma de forrageiras do mundo, estão o do Serviço de Pesquisa Agropecuária do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (ARS/USDA) e os dos países integrantes do Programa Cooperativo Europeu para Redes de Recursos Genéticos Vegetais (ECP/GR). O ARS/USDA possui uma base de dados única, com informações dos acessos presentes em diferentes coleções espalhadas pelo País. Por meio da Rede de Informação sobre Recursos Genéticos, denominada pela sigla inglesa GRIN (Germolasm Resources Information Network), pode-se verificar o número de acessos disponíveis para algumas das principais espécies forrageiras de clima temperado (Tabela 1).

Tabela 1. Número de acessos de algumas das principais espécies forrageiras de clima temperado disponíveis nos Bancos de Germoplasma do Serviço de Pesquisa Agropecuária do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (ARS/USDA).

Espécie	Nome comum	Número de acesso
Dactylis glomerata	Dáctilis	1373
Festuca arundinacea	Festuca	834
Lolium perenne	Azevém perene	603
Lolium multiflorum	Azevém anual	140
Lotus corniculatus	Cornichão	436
Lotus subbiflorus	Lótus "El Rincón"	7
Medicago sativa	Alfafa	3310
Trifolium pratense	Trevo vermelho	1054
Trifolium repens	Trevo branco	597
Trifolium vesiculosum	Trevo vesiculoso	18

A rede ECP/GR, coordenada pela FAO, tem procurado organizar a informação sobre os Bancos de Germoplasma existentes nos países participantes em bases de dados centralizadas. Cada gênero ou grupo de gêneros é de responsabilidade de uma das instituições participantes.

Atualmente, existem 19 bases de dados de gêneros cujo uso principal é forrageiro, e três estão em desenvolvimento (Tabela 2). A informação sobre o número de acessos disponível nessa rede tem se tornado mais confiável, uma vez que, na medida do possível, procura-se eliminar repetições.

Tabela 2. Bases de dados do Programa Cooperativo Europeu para Redes de Recursos Genéticos Vegetais (ECP/GR), número de acessos, taxa e coleções representadas das plantas forrageiras.

Base de dados	Número de acesso	Taxa	Coleção
Agrostis	388	7	10
Annual Medicago	2321	-	8
Arrhenaterum	219	3	9
Avena[1]	30513	-	24
Bromus	583	46	10
Dactylis	8700	10	23
Festuca	7364	27	23
Forage Legumes (Minor)[2]	1090	-	-
Lolium	9050	15	17
Perennial Medicago	2888	32	23
Phalaris	253	7	9
Phleum	4269	10	19
Poa	2636	-	12
Trifolium alexandrinum e *T. resupinatum*	-	2	-
Trifolium pratense	2294	1	19
Trifolium repens	1350	1	14
Trifolium subterraneum	4776	1	10

[1] Inclui acessos graníferos.

[2] Leguminosas de menor importância, abrange os gêneros *Astragalus*, *Anthyllis*, *Coronilla*, *Desmodium*, *Melilotus*, *Lotus*, *Onobrychis*, *Ornithopus*, *Physanthyllis e Tetragonolobus.*

Bases de dados em desenvolvimento: Forage Grasses (Minor), *Lathyrus*, *Vicia* spp.

Considera-se que, em âmbito mundial, um grande número de acessos de forrageiras de clima temperado está sendo conservado. Entretanto, vários dos gêneros citados, como *Agrostis*, *Arrhenaterum* e *Phleum*, são originários de regiões mais frias e não possuem potencial de utilização

no Brasil. Além disso, embora coletas internacionais tenham sido feitas na América do Sul, existe muito ainda a ser feito para obter e conservar germoplasma de interesse mais específico, adaptados às características edafoclimáticas regionais. Pela semelhança entre os países do Mercosul e a Região Sul do Brasil, a realização de esforços conjuntos na conservação e documentação dos recursos genéticos de forrageiras de clima temperado poderia otimizar os resultados. Da mesma forma que o observado na Europa (BOLLER et al., 2005), os limites políticos têm pouca importância para os recursos genéticos de plantas, pois as condições naturais de cultivo são semelhantes além das fronteiras. Dessa forma, recomenda-se maior ênfase em abordagens regionais na conservação de germoplasma, as quais podem ser bastante efetivas, como ocorre nos países nórdicos.

Atualmente, no Brasil, as principais instituições que trabalham com recursos genéticos de forrageiras de clima temperado são a Embrapa, Epagri, UFRGS, Fundacep, Fepagro e, especificamente com aveia forrageira, a Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária (FAPA). Contactando essas instituições, pudemos formar uma visão geral da situação da conservação das forrageiras de clima temperado (Tabela 3). É possível observar que grande parte dos acessos encontra-se em situação de risco, devido ao tempo e condições de conservação. A maior parte dos germoplasmas disponíveis foi obtida por meio de introdução e, nesses casos, existe pouca informação sobre a origem e poucos dados de caracterização.

Tanto para o material introduzido, como para acessos coletados, a informação está organizada de forma precária e muito dependente da memória dos coletores ou pesquisadores envolvidos com essas atividades. Da mesma forma, poucas amostras são encaminhadas para a Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que registra apenas 264 acessos, incluindo forrageiras de clima temperado e subtropical (FAIAD et al., 1998). Isso é um indicativo de que a maioria dos acessos coletados ou introduzidos não está resguardada por medidas de segurança como a conservação em longo prazo e a duplicação (devidamente identificada) do acesso em mais de um local.

Tabela 3. Número de acessos mantidos em Bancos de Germoplasma, por instituição e espécie, e estado de conservação em janeiro de 2005.

Instituição	Espécie	Nº acesso	Tipo de acesso	Situação
Embrapa Gado de Leite/ Clima Temperado/ Pecuária Sul	*Lolium multiflorum*	201	Populações locais e cultivares introduzidas	97 acessos são semente antiga e em pouca quantidade. Os demais 104 acessos em boas condições
	Holcus lanatus	3	2 população locais e 1 cultivar introduzida	Semente em câmara fria, baixa germinação
Embrapa Gado de Leite	*Medicago sativa*	150	Introduções (coleção básica do USDA)	Semente
Embrapa Trigo	*Avena* spp.(1)	332	Introduções e cultivares	Semente em câmara fria
FAPA	*Avena sativa*	28	26 linhagens e 2 cultivares (desenvolvidas na instituição)	Semente em câmara fria, com renovação
Fepagro	*Lolium multiflorum*	9	Populações locais	Não informada
UFRGS	*Trifolium repens*	70	Introduções (coleção básica do USDA)	Pequena quantidade, mantida em geladeira (coleção de trabalho)
	T. pratense	75	Introduções (coleção básica do USDA)	Pequena quantidade, mantida em geladeira (coleção de trabalho)
	Lolium multiflorum	5	Populações naturalizadas em processo de seleção	Pequena quantidade, mantida em geladeira (coleção de trabalho)
	Dactylis glomerata	2	Populações naturalizadas em processo de seleção	Pequena quantidade, mantida em geladeira (coleção de trabalho)
	Lotus corniculatus	12	Populações naturalizadas em processo de seleção	Pequena quantidade, mantida em geladeira (coleção de trabalho)
	Medicago sativa	8	Populações naturalizadas em processo de seleção	Pequena quantidade, mantida em geladeira (coleção de trabalho)
	Paspalum notatum	80	Material nativo, coletado principalmente no RS	Mantido vegetativamente em casa de vegetação
	Paspalum guenoarum	6	Material nativo, coletado principalmente no RS	Mantido vegetativamente em casa de vegetação
	Paspalum urvillei	50	Material nativo, coletado principalmente no RS	Mantido vegetativamente em casa de vegetação

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Instituição	Espécie	Nº acesso	Tipo de acesso	Situação
Epagri	*Agrostis* spp.	12	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Arrhenatherum elatium	21	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Avena spp.	26	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Adesmia spp.	73	Coletas no Brasil	Sementes em câmara fria
	Bromus spp.	128	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Dactylis spp.	133	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Desmodium spp.	10	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Festuca spp.	154	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Holcus lanatus	10	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Lathyrus sativus	3	Coletas no Brasil	Sementes em câmara fria
	Lolium spp.	211	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Medicago spp.	58	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Melilotus alba	3	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Ornithopus spp.	98	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Phalaris spp.	84	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Phleum pratense	29	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Pisum sativum	17	Coletas no Brasil	Sementes em câmara fria
	Poa spp.	71	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Trifolium spp.	170	Coletas e introduções	Sementes em câmara fria
	Vicia spp.	72	Coletas no Brasil	Sementes em câmara fria

*Espécies representadas: *Avena abyssinica*, *A. barbata*, *A. brevis*, *A. byzantina*, *A. eriantha*, *A. fatua*, *A. longiglumis*, *A. magna*, *A. maroccana*, *A. sativa*, *A. sterilis*, *A. strigosa*, *A. vaviloviana*, *A. wiestii*

Forma de Conservação

Grande parte das espécies forrageiras de clima temperado apresenta sementes ortodoxas, seguindo os padrões recomendados. Entretanto, o tempo de conservação varia de acordo com a espécie. De maneira geral, o período em que são mantidas sem maiores riscos leva em conta o armazenamento em condições adequadas (umidade relativa do ar inferior a 65% e temperatura abaixo de 21 °C). Assim, sob essas condições, a viabilidade das sementes é de 3 a 4 anos para azevém e trevo-branco;1 a 2 anos para alfafa, festuca e trevo-vermelho; e de 1 ano para faláris e cornichão (CARAMBULA, 1981). Entretanto, as condições da amostra inicial, em termos de germinação e vigor, influenciam grandemente a conservação.

Para as espécies que permitem a propagação vegetativa, essa prática pode ser utilizada, representando uma forma de multiplicar mais rapidamente o número de plantas e manter com maior segurança a identidade do acesso. A conservação dos acessos no campo gera um alto envolvimento de mão de obra, com cortes e capinas frequentes. Por sua vez, a conservação de sementes exige um ambiente controlado, especialmente quanto à temperatura e umidade, necessitando de uma câmara especial, com equipamentos geralmente caros e de difícil manutenção. Pode-se afirmar com segurança que, atualmente, a maioria das instituições que se propõem a trabalhar com recursos genéticos de forrageiras de clima temperado no Brasil não possui condições adequadas para o armazenamento de sementes, caracterizando um dos principais problemas que limita a continuidade da pesquisa.

No caso da conservação por sementes, a renovação dos acessos representa uma fase crítica na manutenção e uso dos recursos genéticos de forrageiras. Com base nas necessidades para produção de semente de

qualidade enumeradas em Carâmbula (1981), entre os principais problemas, podemos citar:

- Necessidade de áreas distantes entre si para cada acesso, uma vez que grande parte das espécies é alógama.
- Presença de plantas de ocorrência espontânea da mesma espécie, uma vez que muitas espécies se encontram naturalizadas na região de utilização, como ocorre com o azevém.
- Condições climáticas desfavoráveis à produção de sementes, como na alfafa em grande parte do Brasil.
- Necessidade de polinizadores específicos, que nem sempre ocorrem na abundância necessária.
- Propensão à debulha natural, porque é característica desejável na ressemeadura natural.
- Desuniformidade na maturação, mais evidente nessas espécies do que nas graníferas, uma vez que a seleção é favorável à capacidade de rebrote e afilhamento.

Considerações Finais

As forrageiras de clima temperado possuem grande importância para a produção pecuária e, por isso, existe uma preocupação mundial com sua conservação. O número de acessos de forrageiras de clima temperado conservadas no Brasil, apresentado neste capítulo, inclui, com grande probabilidade, repetições entre diferentes coleções. A organização dessa informação por meio da rede de instituições interessadas no tema é de grande interesse e deve ser estimulada.

Quando se consideram sementes sob conservação, de maneira geral, os acessos estão em condições de manter a viabilidade por períodos re-

lativamente curtos, existindo um risco real de perda. Da mesma forma, as instituições têm dificuldades de estrutura e de pessoal para realizar a renovação e multiplicação de sementes dos acessos. A solução desse problema deve ser prioridade absoluta para que não haja desperdício dos recursos investidos em coleta e caracterização. Outra dificuldade é que, normalmente, os curadores de bancos de germoplasma de forrageiras no Brasil acumulam essa função com o melhoramento genético das mesmas espécies, que acaba sendo priorizado. Portanto, a formação e contratação de especialistas e pessoal de apoio em recursos genéticos em geral, e mais especificamente de forrageiras, devem ser incentivadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos colegas Ana Christina Sagebin Albuquerque, Daniel Portella Montardo, Francisco José da Silva Ledo, Gilberto Dalagnol, Juliano Luiz de Almeida e Miguel Dall'Agnol, pela atenção e presteza no fornecimento dos dados relativos aos Bancos de Germoplasma sob sua responsabilidade.

Referências

ABDELKEFI, A.; MARRAKCHI, M. Les ressources phytogénétiques fourragères et pastorales: de l'érosion à la conservation. In: SULAS L. (Ed.). **Legumes for mediterranean forage crops, pastures and alternative uses** = Légumineuses pour cultures fourragères, pâturages et autres usages en région méditerranéenne. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 2000. p. 15-27: 32 ref. (Cahiers Options Méditerranéennes; v. 45), 10. Meeting of the Mediterranean Sub-Network of the FAO-CIHEAM Inter-Regional Cooperative Research and Development Network on Pastures and Fodder Crops, 2000/04/04-09, Sassari (Italy).

BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; MITTELMANN, A. **Conservação 'ex-situ' de recursos genéticos vegetais na Embrapa Clima Temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. 27 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 143).

BOLLER, B.; WILLNER, E.; MAGGIONI, L.; LIPMAN, E. (Ed.). **Report of a working group on forages**: eighth meeting, 10-12 April 2003, Linz, Austria. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2005.

BORRILL, M. Temperate grasses. In: SIMMONDS, N. W. **Evolution of crop plants**. London: Longman, 1976. 631 p.

CARÂMBULA, M. **Producción de semillas forrajeras**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1981.

DIAGNÓSTICO Brasil: a ocupação do território e o meio ambiente. Rio de Janeiro: IBGE, 1991. 170 p.

EASTON, A. Ryegrasses. In: WRATT, G. S.; SMITH, H. C. (Ed.). **Plant breeding in New Zealand**. Butterworths: D.S.I.R., 1980. p.

ECP/GR, IPGRI. ECP/GR. European Central Crop Databases (ECCDBs). **Cooperative programme for crop genetic resources networks**. Disponível em: <http://www.ipgri.cgiar.org/links/ ecpgr_search.asp.> Acesso em: 24 out. 2005.

FAIAD, M. G. R.; GONDIM, M. T. P.; FERREIRA, F. R.; MIRANDA, A. R; BARBOSA, N. F.; VASCONCELOS, L. C. **Conservação de germoplasma:** semente a longo prazo. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 35 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 1).

MONTARDO, D. P.; DALL'AGNOL, M.; HARTMANN, V. R.; NABINGER, C.; GABE, N. L.; FIORIN, C. A.; WIELEWICKI, A. P.; CASTRO, R. L. de. Estabilidade produtiva de populações de azevém anual em diferentes regiões do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAGEIRAS DO CONE SUL: ZONA CAMPOS, 20., 2004. Salto. **Anais**... Montevidéu: Fac. de Agronomia, 2004. p. 113-114.

MONTARDO, D. P.; FLORES, R.; PEREIRA, É.; DALL'AGNOL, M.; GABE, N. L.; MARTINS, J. D.; NABINGER, C.; FIORIN, C. A.; CASTRO, R. L. de; DEBIASI, H. Produção de forragem de populações de azevém anual em diferentes ambientes do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais**... 2005.

NEHMI, I. M. D.; NEHMI FILHO, V. A.; FERRAZ, J. V. (Ed.). **Anualpec 2005**. São Paulo: Instituto FNP, 2005.

REIS, J. C. L. **Pastagens em terras baixas**. Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1998. 34 p. (EMBRAPA-CPACT. Circular Técnica, 7).

USDA ARS. **National genetic resources program**: germplasm resources information network – (GRIN). Beltsville, Maryland: National Germplasm Resources Laboratory. Disponível em: <http://www.ars-grin.gov2/cgi-bin/npgs/html/taxfam.pl?language=pt>. Acesso em: 24 out. 2005.

12

Recursos Genéticos de Espécies Frutíferas

Juliano Gomes Pádua
Francisco Ricardo Ferreira

Introdução

Por definição botânica, fruto é a estrutura que se origina do desenvolvimento do ovário após a fecundação. Grande número de espécies de plantas que produzem frutos não é classificado como fruteira. Por exemplo, o tomate, ainda que seja uma fruta, é classificado como hortaliça. O inverso também pode ser observado, ou seja, quando outras partes de uma planta não se constituem fruto, ainda assim, é tido como tal pela população, como, por exemplo, o caju e o abacaxi. O fruto do caju é a parte que contém a castanha, e o que se consome ou se utiliza em sucos e doces é um pseudofruto, correspondente ao pedúnculo floral. Já o abacaxi é uma infrutescência. Portanto, quando se utiliza os termos fruteiras, espécies frutíferas ou fruticultura, está se referindo às espécies cujo produto procedente da frutificação é destinado ao consumo in natura, segundo a definição da Anvisa, sendo assim classificadas nas disciplinas de fruticultura das universidades nacionais e internacionais e pela Sociedade Brasileira de Fruticultura (SBF).

Recursos Genéticos de Fruteiras

Didaticamente as fruteiras são divididas em dois grupos: as tropicais e as temperadas ou subtropicais. Essa classificação é baseada segundo o centro de origem das espécies. Nessa definição, aquelas cujo centro de origem se localiza em altas latitudes são tidas como fruteiras temperadas, necessitando de um acúmulo de horas de frio no inverno para adequadas brotação e floração.Apesar de uma reduzida porção do território brasileiro apresentar as condições climáticas para o desenvolvimento e produção dessas espécies, algumas são de grande importância socioeconômica para o Brasil (RASEIRA; NAKASU, 2001).

O desenvolvimento de cultivares com baixo requerimento de horas de frio para iniciar a produção tem sido meta da fruticultura no Brasil. Os recursos genéticos têm sido usados para o desenvolvimento de cultivares com essa característica em diversos programas de melhoramento genético, principalmente pelo Instituo Agronômico de Campinas, desde de 1950, e por diversas outras instituições brasileiras.

Os resultados expressivos desses programas pode ser mostrado comparando-se tanto a produção quanto a produtividade de maçã no Brasil desde os anos de 1970 até a época atual. A produção de maçã no Brasil era praticamente inexistente e a produtividade era cerca de 10 t ha^{-1}. Trinta anos depois, o Brasil produz cerca de 1 milhão de toneladas de maçã, com rendimento de 40 t ha^{-1} (MELLO, 2006), o que permitiu tornar-se um exportador do produto.

Quanto à fruticultura tropical, o Brasil é o maior produtor mundial (MORGADO et al., 2004). Essa posição é devida ao sucesso dos programas de melhoramento genético e da variação climática e ambiental que o País apresenta. Como resultado dessa combinação de fatores, há uma alta variabilidade genética disponível no germoplasma autóctone, como no caso de abacaxi, maracujá, mamão, goiaba e caju. Além desses produtos, o Brasil é o centro de origem de uma infinidade de espécies como o

cacau, cupuaçu, guaraná, umbu, jatobá, pequi, araticum, baru e mangaba (GIACOMETTI, 1993). Apesar dessa enorme variedade de espécies, a produção brasileira é fortemente direcionada às exóticas, notadamente os citros, manga e banana (LACERDA et al., 2004), conforme pode ser visto na Tabela 1, que apresenta os dados de produção das principais espécies produzidas pelo Brasil entre os anos de 2001 e 2007.

Por que Conservar Recursos Genéticos de Fruteiras?

O objetivo primário da conservação é a manutenção da variabilidade genética existente dentro de uma espécie, ou até mesmo dentro de um grupo de espécies que podem contribuir com alelos favoráveis em programas de melhoramento. Segundo Franco e Hidalgo (2003), as fontes de variabilidade podem ser resumidas em três categorias: evolutiva, geográfica e de domesticação. A evolutiva corresponde à variabilidade advinda dos processos evolutivos a que uma determinada espécie foi submetida durante sua existência. Entre esses processos, os principais são: mutação, migração, recombinação, que podem gerar novos alelos, e a seleção tanto natural quanto artificial e deriva genética, que podem gerar novas combinações alélicas dentro do germoplasma.

Algumas espécies frutíferas apresentam uma ampla distribuição geográfica; dessa forma estão submetidas a inúmeras condições climáticas e bióticas. Dentro dessa categoria, há ainda que se fazer menção à domesticação, pois o homem tem papel fundamental na dispersão e migração das espécies. Assim, em novos ambientes, variedades adaptadas às condições locais são criadas. O processo de domesticação refere-se à intervenção do homem na evolução das plantas. Nesse contexto, a seleção artificial executada acabou por alterar profundamente a história evolutiva das plantas. Genótipos que dificilmente surgiriam naturalmente foram artificialmente desenvolvidos, notadamente, os híbridos interespecíficos. O inverso também ocorre, já que genótipos naturalmente produzidos acabaram perdidos.

Tabela 1. Produção brasileira de algumas frutas entre 2001 e 2007.

Produto	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001
Abacaxi (1.000 frutos)	1.784.278	1.707.088	1.528.313	1.477.299	1.440.013	1.433.234	1.430.018
Abacate (t)	154.096	164.441	169.335	170.534	156.661	173.948	154.224
Azeitona (t)	1	-	-	-	-	-	2
Banana (t)	7.098.353	6.956.179	6.703.400	6.583.564	6.800.981	6.689.179	6.177.293
Cacau (t)	201.651	212.270	208.620	196.005	170.004	174.796	185.662
Coco-da-baía (1.000 frutos)	1.985.478	1.887.336	2.079.291	2.078.226	1.985.661	1.928.236	1.420.547
Dendê (t)	1.073.727	1.207.726	903.500	909.285	896.295	717.893	772.097
Figo (t)	23.225	26.476	23.697	26.839	25.586	23.921	25.981
Goiaba (t)	316.301	328.255	345.533	408.283	328.747	321.127	281.102
Guaraná (t)	3.388	2.989	2.995	3.844	3.744	4.032	3.935
Laranja (1.000 t)	18.685	18.032	17.853	18.313	16.917	18.530	16.983
Limão (1.000 t)	1.019	1.031	1.031	986	981	985	965
Maçã (t)	1.115.379	863.019	850.535	980.203	841.821	857.388	716.030
Mamão (t)	1.811.535	1.897.639	1.573.819	1.612.348	1.714.594	1.597.696	1.489.324
Manga (t)	1.272.184	1.272.187	1.002.211	949.610	925.018	849.751	782.348
Maracujá (t)	664.286	615.196	479.813	491.619	485.342	478.652	467.464
Marmelo (t)	931	910	1.078	1.248	1.266	1.275	1.308
Pera (t)	17.074	18.161	19.746	19.894	19.790	19.696	21.522
Pêssego (t)	185.959	199.179	235.471	235.720	220.364	218.292	222.636
Tangerina (t)	1.205.579	1.270.108	1.232.599	1.163.213	1.304.743	1.262.744	1.125.052
Uva (t)	1.371.555	1.257.064	1.232.564	1.291.382	1.067.422	1.148.648	1.058.579

Fonte: IBGE http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/

A domesticação das plantas cultivadas, sem nenhuma exceção, acabou por aumentar a produtividade, porém reduziu drasticamente a base genética dessas espécies (ZAMIR, 2001). Uma vez que o desenvolvimento de novas cultivares necessita de variabilidade genética, esta torna-se importante e primordial na busca de alelos capazes de conferir resistência tanto aos estresses bióticos quanto aos abióticos.

Trabalhando a variabilidade disponível, conservada nos bancos de germoplasma, é possível a obtenção de cultivares de excelente desempenho. Giacometti e Ferreira (1987) apresentam o exemplo de utilização da variabilidade genética ancestral pelo homem no caso da bananeira.

As cultivares atuais de banana se originaram da seguinte forma: inicialmente foi selecionado um diploide (AA) de *Musa acuminata* comestível, o qual se originou no Sudeste Asiático e nas Ilhas Papua Nova Guiné, que produzia frutos partenocárpicos. Posteriormente surgiram os triploides (AAA) nessa mesma região, os quais substituíram os diploides. Esses diploides e triploides de *M. acuminata* foram levados pelo homem para as regiões da Índia, Tailândia, Burma e Filipinas, onde ocorria, e continua ocorrendo até hoje, na forma silvestre, a espécie *M. balbisiana*, diploide (BB) não comestível. Nesses locais, ocorreu hibridação natural entre as duas espécies dando origem aos genomas AB, AAB, ABB, partenocárpicos e comestíveis. A utilização da variabilidade genética existente nesses grupos genômicos, onde ocorre resistência às principais doenças, constitui a estratégia do melhoramento genético da bananeira.

Foi reportado que a banana cultivada pode desaparecer em curto período, ameaçada por doenças e pela perda de populações naturais destruídas pelo desmatamento (NEW SCIENTIST MAGAZINE, 2006). Apesar de ser uma previsão alarmante, dificilmente se concretizará como um todo, porém, certamente, muito da variabilidade ainda não conservada em bancos de germoplasma será perdida.

Diante da importância da fruticultura para o agronegócio brasileiro, são mantidos bancos ativos de germoplasma (BAG) de espécies frutí-

feras. Além da Embrapa, outras instituições participam, cobrindo mais de 300 espécies e quase 17 mil acessos de distribuídos em 107 coleções (FERREIRA, 2001).

Aspectos Importantes a Serem Considerados

A conservação dos recursos genéticos pode ser realizada na forma in situ e ex situ. A conservação in situ está relacionada às espécies silvestres no seu habitat. Uma das vantagens desse sistema, sobre a conservação ex situ em bancos de germoplasma, é permitir e preservar a continuidade do processo evolutivo das espécies nas condições do seu ambiente natural. Porém, ela é muito pouco utilizada em razão basicamente dos problemas de ordem fundiária e das dificuldades de manejo do germoplasma envolvido.

Na forma ex situ, os recursos genéticos são conservados nos bancos de germoplasma, ou também nas chamadas coleções de germoplasma. A conservação pode ser em curto, médio e longo prazos.

A conservação, principalmente em longo prazo, é realizada por meio de sementes (ortodoxas), meristemas (in vitro), órgãos e tecidos (criopreservação) e plantas no campo. No caso das espécies frutíferas, a conservação por meio coleção de plantas no campo é a forma mais usada. A conservação via sementes é muito pouco utilizada pelo fato de que grande parte dessas espécies produz sementes recalcitrantes, além do que a maioria delas é propagada vegetativamente, preservando a forma clonal, que não pode ser garantida na conservação de sementes. A criopreservação e a conservação in vitro são usadas principalmente visando à duplicata da coleção a campo.

De maneira geral, na conservação do germoplasma de fruteiras, melhoristas têm preferido a conservação a campo em detrimento das outras

formas relatadas, principalmente porque, a campo, os genótipos estão prontamente disponíveis para uso, enquanto na conservação via semente, in vitro ou criopreservadas, os materiais demandariam um tempo muito longo (até 10 anos em alguns casos) para que os indivíduos pudessem atingir o estádio reprodutivo, o que limitaria ou até inviabilizaria o trabalho do melhorista.

Porém, a conservação a campo mostra-se onerosa, o que dificulta a sua manutenção de forma satisfatória. Como no Brasil o germoplasma é conservado basicamente por instituições governamentais, tanto em âmbito estadual quanto federal, complicadores envolvendo a escassez de mão de obra e recursos financeiros dedicados à manutenção das coleções e bancos fazem parte do cotidiano.

Uma alternativa a essa estratégia é a conservação on farm, uma modalidade na qual há a participação direta de agricultores, comunidades tradicionais e indígenas. No caso de fruteiras, por exemplo, dá-se atenção especial à conservação on farm os projetos Programa Biodiversidade Brasil-Itália (http://www.pbbi.org.br/site/projetos/projeto_trasnversal.php), além de uma iniciativa da Embrapa e UFBA, na Bahia (CARVALHO et al., 2001), e outra do INPA na conservação de espécies de *Theobroma* (Charles R. Clement, comunicação pessoal).

Uma forma que tem sido preconizada como alternativa é a conservação em plantios adensados, como o exemplo da uva (CAMARGO, 1999). Os acessos já caracterizados e avaliados (descritores mínimos) são conservados em miniestufas, mantendo-se três a quatro plantas, em pé-franco por acesso. Esse sistema oferece condições importantes de controle (tratamento de solo, irrigação, controle fitossanitário) e reduz, significativamente, os custos de conservação. Enquanto, no campo, são necessários de 15,0 m² a 22,5 m² por acesso, por esse sistema podem ser mantidos 3 a 5 acessos por metro quadrado, além de proporcionar material vegetativo para intercâmbio e uso imediato.

Os bancos de germoplasma de fruteiras constituem um repositório de genes, cujos acessos podem ser introduzidos na forma de sementes, meristemas, estacas, borbulhas e rizomas. São mantidos de acordo com a exigência das espécies com um ou mais representantes de cultivares primitivas e avançadas, populações silvestres e componentes genéticos.

Mais recentemente, baseado nos avanços da biologia molecular, vários países têm investido na conservação de amostras de DNA de diversos organismos. Os bancos de DNA têm por objetivo principal conservar amostras para estudos de taxonomia – principalmente de espécies em risco de extinção –, estudos de ecologia evolutiva e análises de interações entre populações. Nesse sentido, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia está iniciando a implantação de banco de material genético, incluindo coleções de suporte de DNA genômico, de biblioteca genômica e de genes, BAC, EST, RGA e bancos de metabólitos, células e tecidos.

Outro aspecto que merece atenção é a regeneração dos acessos em conservação. Com o passar do tempo e o envelhecimento das plantas, torna-se necessário renovar a coleção. Para aquelas espécies multiplicadas de forma vegetativa, pode-se garantir a estabilidade genética do material ao longo das gerações. Porém, para espécies que dependem de reprodução sexuada para obtenção de novas plantas, há que se tomar alguns cuidados de forma a impedir ou minimizar os efeitos prejudiciais da deriva genética. Esse fator pode implicar na perda de alelos presentes em baixa frequência ou associados a alguma característica de baixo valor adaptativo, diminuindo a representatividade e riqueza da coleção. Outro aspecto importante a se ressaltar no caso de reprodução sexuada é a perda de alelos devido à dormência de sementes. Nessa situação, corre-se o risco da perda dos mesmos, caso não se obtenham novas plantas após a regeneração do banco germoplasma. Basicamente, as ações de regeneração devem ser monitoradas pela estimação do tamanho efetivo populacional da coleção, que pode ser realizada com o auxílio de marcadores moleculares (VENCOVSKY; CROSSA, 2003).

Além dos temas anteriormente descritos, a documentação dos acessos que compõem o banco de germoplasma apresenta papel fundamental, proporcionando a disponibilização de informações ao público interessado, e, consequentemente, promovendo o uso do germoplasma conservado. Mais detalhes acerca desse tema podem ser obtidos no capítulo 'Bancos de Germoplasma importância e organização' deste livro.

Espécies de Fruteiras sob Conservação

Estima-se que existam cerca de 265 mil acessos de fruteiras conservados em todo o mundo, incluindo duplicatas de, aproximadamente, 900 espécies e quase 200 gêneros. Na Tabela 2, apresentam-se dados sobre as principais coleções mundiais de fruteiras. O IBPGR (1992) relata que 78,3%, ou seja, em torno de 207.000 acessos, são livres para intercâmbio, e que existem cerca de 35% de duplicatas nas coleções de fruteiras inventariadas, ou seja, o número real de genótipos distintos estaria em torno de 172.250. Contudo, levando-se em consideração que a maioria desse germoplasma é mantido no campo, sujeita, portanto, a interferência de fatores bióticos e abióticos, tais como inundações, secas, infecção por patógenos e (ou) pragas, essa duplicação é algo desejável e deveria ser estimulada, desde que devidamente documentada. Além da legislação internacional, existem as leis nacionais, que estão sendo elaboradas e implementadas, as quais têm restringido e muito o intercâmbio de germoplasma de maneira geral, apesar de terem sido construídas visando incremetar o intercâmbio.

O Brasil é um país megadiverso. Sem dúvida nenhuma, temos uma das maiores biodiversidades do planeta, e as fruteiras autóctones não fogem a essa regra, como é o caso do abacaxi, caju, maracujá, além de diversas espécies frutíferas de importância potencial. Porém o Brasil é altamente dependente de germoplasma externo, notadamente das fruteiras de maior importância econômica e social como banana e citros.

Tabela 2. Número de acessos nas coleções mundiais de fruteiras.

País	Caju	Abacaxi	Mamão	Citros	Coco	Cydonia	Acerola	Maçã	Manga	Banana	Maracujá	Abacate	Pistache	Prunóideas	Pera	Theobroma	Vitis	Total geral
África do Sul				1.005					117									1.122
Albânia																	343	343
Alemanha						23		1.907						1.194	315		2.760	6.199
Argentina				915										767				1.682
Austrália	23			566		31			289	432		296	73	1.979	209			3.898
Bangladesh										254								254
Bélgica								1.200		1.046				656	861			3.763
Benin																66		66
Brasil	641	1.090	349	3.212	19	29*	261	1.198	1.143	579	391	554		2.066	246	1.480	1.839	14.657
Bulgária								1.221						680				1.901
Camarões										504								504
Canadá						14		13.233						1.237	4.703		2.800	21.987
China				880														880
Colômbia	473	56	171	339	122				202	628	104	177				1.207		3.479
Congo										300								300
Costa Rica										814	27					698		1.539
Cuba		64	20	539					401	293		367						1.684
Dinamarca								706										706
El Salvador									180			64						244
Equador			367						158		370	51				1.649		2.595
Eslováquia								614						867	207		2.062	3.750
Eslovênia																	125	125
Espanha				328									2.296	1.178			5.783	9.585
EUA			211	1.863				5.195	393		30	423		10.864	2.878		3.946	25.803
Fiji					11				143									154

Continua...

Tabela 2. Continuação.

País	Caju	Abacaxi	Mamão	Citros	Coco	Cydonia	Acerola	Maçã	Manga	Banana	Maracujá	Abacate	Pistache	Prunóideas	Pera	Theobroma	Vitis	Total geral
Filipinas	1345	25	326		203				511	751		262				136		3.559
França		854	47	1.019	161	55	13	2.843	232	977	34	86		3.053	1.289	701	12.185	23.549
Grécia																	1.521	1.521
Guiana		30					50											80
Havaí		140																140
Holanda								734										734
Honduras										896						126		1.022
Hungria						74		840						2.699	869		2.683	7.165
Índia	880	33	266	952	129				1.106	1.046						63		4.475
Indonésia		48		415					301			42						806
Israel			10									200	10					220
Itália						171		4.682					25	8.816	2.318		1.927	17.939
Jamaica			34	178	60					360	16	109						757
Japão		109		840														949
Malásia		54	35															89
Marrocos				586														586
México		68	135	271	74		212		128			369		1.401		175	277	3.110
Moçambique	531	20							119									670
Nicarágua												56				120		176
Nigéria	574	84	180							354								1.192
Nova Zelândia												80			200			280
Panamá	103		11															114
Papua					11					889								900
Paquistão															178			178
Peru		70	195								172	36			262	83		818

Continua...

Tabela 2. Continuação.

País	Caju	Abacaxi	Mamão	Citros	Coco	Cydonia	Acerola	Maçã	Manga	Banana	Maracujá	Abacate	Pistache	Prunóideas	Pera	Theobroma	Vitis	Total geral
Polônia								1.274						822	302			2.398
Porto Rico		58																58
Portugal													36				1.117	1.153
Rep. Dominicana									168	244		184					150	746
Rep. Tcheca								1.109									879	1.988
Romênia						73		1.455						1.104	752		1.480	4.864
Rússia						313		3.290						2.221	1.508			7.332
Seichelles												100						100
Serra Leoa					200				200							200		600
Síria													179					179
Sri Lanka					41													41
Suécia								9.012						6.815	509		6.068	22.404
Suíça						22		2.290						821	1.442		411	4.986
Tailândia	744	16		621	20				200	402	11	363						2.377
Taiwan		54							176	283		34						547
Tanzânia					61													61
Trinidad e Tobago																2.325		2.325
Turquia				746		82												828
Ucrânia						75		2.413						4.508	1.326		392	8.714
UK								2.999							218	150		3.367
Venezuela		65			934				180	220						1.145		2.544
Vietnã		21		309	30											60		420
Total geral	5.314	2.959	2.357	15.584	2.076	962	536	58.215	5.907	11.272	1.155	3.853	2.619	53.748	20.592	10.384	48.748	246.281

Fonte: Bioversity (2007); Eurisco (2007); *Informação incluída pelos autores.

No Brasil, incluindo as duplicatas existentes principalmente entre as coleções, são catalogados quase 17 mil acessos, distribuídos em mais de 100 coleções de germoplasma (FERREIRA, 1999). Na Tabela 2, apresenta-se um total de 14.865 acessos. A diferença de mais de 2 mil acessos pode ser atribuída principalmente às coleções de fruteiras nativas de importância regional existentes no País e não incluídas. A seguir, as coleções são apresentadas, por espécie.

Abacate (*Persea americana*)

As coleções de germoplasma de abacate existentes no País são pequenas e com variabilidade genética restrita. Na Tabela 2, mostra-se um acervo de 554 acessos de *Persea americana*, distribuídos em 10 coleções. As plantas, na forma de clone, são mantidas no campo, com 3 a 5 exemplares por acesso. Há necessidade de um plano sistemático de enriquecimento das coleções brasileiras. Material das três raças hortícolas (Antilhana, Guatemalense e Mexicana) e de seus respectivos híbridos deve compor as coleções, além de outras espécies de *Persea* do México e América Central com resistência às principais doenças. As espécies brasileiras e sulamericanas de *Persea* também precisam ser coletadas e incorporadas ao banco de germoplasma para caracterização e avaliação.

A obtenção de genótipos para áreas sujeitas a geadas, como as variedades mexicanas e seus híbridos resistentes ao frio, é interessante para as condições de clima ameno da Região Sul do Brasil. Da mesma forma, os materiais da raça antilhana e seus híbridos deverão ser obtidos, para atender as condições de clima quente e úmido da Amazônia (GIACOMETTI; FERREIRA, 1979).

O BAG de abacate da Embrapa Cerrados tem sido avaliado, principalmente para as características da planta e do fruto, mostrando haver grande variabilidade entre os acessos conservados na coleção no campo (VARGAS RAMOS et al., 2003).

Atualmente tem havido demanda para estabelecimento da cultura do abacate no Sul do país, especialmente nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. A importação de germoplasma para atender essa condição de clima mais ameno tem sido implementada.

Abacaxi (*Ananas comosus* var. comosus)

Um dos maiores centros de diversidade genética do abacaxi é o Brasil. Atualmente, o gênero *Ananas* contém apenas duas espécies. Todas as espécies foram incorporadas como variedades de *A. comosus* (por exemplo, *A. ananassoides* é hoje *A. comosus* var. ananassoides). A outra espécie é *A. macrodontes*, antes denominada *Pseudananas sagenarius* (D' EECKENBRUGGE; LEAL, 2003).

A Embrapa tem desenvolvido um projeto de coleta de germoplasma de abacaxi, durante quase três décadas, resultando em cerca de 25 expedições e o resgate de mais de 700 acessos. O germoplasma é mantido em coleção no campo, em parcelas com 20 plantas por acesso. O material tem sido caracterizado e avaliado, utilizando-se como base o manual de descritores editado pelo IBPGR (1991), com modificações e adaptações. A metodologia de caracterização e avaliação passa a ter praticidade e objetividade, com a inclusão de descritores considerados importantes, que estavam ausentes no manual original. Mais recentemente tem se elaborado o manual de descritores de abacaxi ornamental, em consonância com o Sistema Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Acerola (*Malpighia emarginata* (= *M. glabra*))

A planta pode ser propagada de várias maneiras, mas comercialmente as mudas são formadas a partir de sementes ou de estacas. Atualmente, a propagação por estaquia tem sido preferida por causa das vantagens consagradas pela propagação assexuada. As plantações mais antigas, no

entanto, foram quase todas estabelecidas pela propagação seminífera. Musser (1995) relata que mais de 90 % dos pomares da região do Submédio São Francisco são oriundas de plantas propagadas por semente, o que resulta numa alta heterogeneidade da cultura, dando origem a genótipos bastante diferenciados, os quais têm sido coletados e propagados vegetativamente para o estabelecimento das coleções de germoplasma.

Existem nove coleções de germoplasma de acerola no Brasil com mais de 300 acessos, incluindo duplicatas. Em geral, utilizam-se clones, trabalhando-se em alguns casos com progênies de meios - irmãos. As plantas são mantidas no campo, utilizando-se de 4 a 10 plantas por acesso. Nos bancos ativos de germoplasma (BAG), a caracterização é feita com base nos descritores e no desempenho agronômico, principalmente rendimento e qualidade do fruto.

Anonáceas (*Annona* spp.)

O gênero *Annona* possui cerca de 120 espécies, das quais 108 são originárias da América Tropical e 10 da África Tropical; apenas uma espécie, *A. glabra*, ocorre em ambos os continentes (FERREIRA; PINTO, 2005). Segundo Scaloppi Junior (2004), podem-se dividir as espécies cultivadas em cinco grupos: (i) Guanambi, que corresponde às graviolas; (ii) Bilaeflorae, que agrupa as espécies com cera; (iii) Aculiflorae, representando as espécies que apresentam pétalas afiladas; (iv) Annonellae, do qual fazem parte as anonas anãs; e (v) Attae, que abriga as anonas comuns, encontrando-se nesse grupo as principais anonáceas cultivadas: graviola (*Annona muricata* L.), condessa (*A. reticulata* L.), pinha (*A. squamosa* L.), cherimoia (*A. cherimola* Mill.) e atemoia (*A. cherimola* x *A. squamosa*).

Ferreira (1997) fornece mais detalhes sobre essas espécies. Além das espécies de *Annona*, existe o gênero *Rollinia*, com diversas espécies que produzem frutos comestíveis. Algumas são nativas do Brasil, e a mais

importante delas é a *R. mucosa*, originária das Antilhas e da região Norte da América do Sul. Fouqué (1972), em sua monografia sobre anonaceas, fornece mais detalhes sobre inúmeras espécies de *Annona* e *Rollinia*.

As coleções brasileiras de anonáceas contemplam uma grande variabilidade interespecífica. O material é mantido no campo, e, normalmente, é propagado por semente; apenas algumas variedades de destaque em graviola, cherimoia, atemoia ou pinha são propagadas por enxertia. No entanto o trabalho de caracterização morfológica é ainda incipiente. Dados de avaliação agronômica, contudo têm permitido selecionar materiais mais adaptados e promissores para as diversas regiões brasileiras. Trabalhos de enxertia, utilizando germoplasma mais rústico como porta-enxerto, têm contribuído para a melhoria da cultura. Nesse aspecto, a coleta de espécies autóctones mais primitivas deve ser incentivada.

Banana (*Musa* spp.)

No Brasil o termo banana inclui banana e plátano (planta do grupo AAB que produz frutos com alto teor de amido, geralmente para consumo cozido). Porém, a maior importância refere-se às bananas do grupo AAA (Cavendish) e AAB (grupo Maçã e Prata). As cultivares de plátano apresentam importância marginal.

A banana é originária da Ásia, tendo sido introduzida no Brasil há muito tempo, onde teve ótima adaptabilidade, dando ao País uma posição de destaque na produção mundial de banana (FAO, 2007).

Até o início da década de 1980, as coleções de germoplasma de banana existentes no Brasil eram bastante limitadas, conforme relatam Giacometti e Ferreira (1979). A partir de então, a Embrapa decidiu investir no enriquecimento da variabilidade genética para suprir as necessidades do melhoramento genético.

Foram realizadas duas longas expedições à Ásia para coleta/introdução de germoplasma de banana, a primeira em 1982 na Índia, Filipinas

e Papua Nova Guiné, e a segunda em 1985 na Malásia, Tailândia e Indonésia. Além disso, outros países foram visitados, tais como: Martinica, Guadalupe, Havaí, Equador e Venezuela. Isso tornou possível implantar um banco de germoplasma de banana, com características apropriadas para o melhoramento genético, desde o ponto de vista de fertilidade e de resistência às principais pragas e doenças que afetam a cultura (FERREIRA et al., 2004).

Existem várias coleções de germoplasma de banana no Brasil. O BAG mantido pela Embrapa é o maior, com ampla variabilidade genética. Grande parte coleção de banana tem sido caracterizada e avaliada com base em descritores previamente estabelecidos. São utilizados 107 descritores, principalmente para avaliação de características morfológicas e agronômicas (SILVA et al., 1999).

Caju (*Anacardium occidentale*)

O caju (*Anacardium occidentale*), assim como diversas outras espécies de *Anacardium*, é nativo do Brasil, existindo uma ampla variabilidade genética, tanto intra como interespecífica na biodiversidade brasileira. Paiva et al. (1997) relatam que das 21 espécies descritas apenas três não ocorrem no Brasil. Pelo menos três ecossistemas distintos abrigam espécies de *Anacardium*. Assim, *A. occidentale* é nativo no litoral do nordeste brasileiro. Outras espécies de porte reduzido são originárias de áreas de Cerrados, tanto no Planalto Central como na Região Norte. Já as espécies de porte elevado têm como centro de diversidade genética as matas tropicais úmidas da Amazônia.

O BAG de caju mantido pela Embrapa contém 496 acessos, a maioria pertencente ao *A. occidentale*. As demais coleções são pequenas e apresentam importância regional. A coleção tem sido caracterizada e avaliada com base em descritores morfológicos e agronômicos. A caracterização bioquímica e molecular realizada em laboratório vem complementando os dados de campo.

Citros (*Citrus* spp.)

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja e o maior exportador de suco concentrado dessa frutífera. Os citros são originários na Ásia, porém foram introduzidos no Brasil há muito tempo, e graças a sua alta plasticidade fenotípica, adaptaram-se muito bem às condições edafoclimáticas prevalentes. Em todo território brasileiro, existem citros cultivados comercialmente.

Existem inúmeras coleções de germoplasma de citros no Brasil, porém cinco são as mais expressivas. A coleção do Instituto Agronômico de Campinas, mantida no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, em Cordeirópolis, SP, com mais de 1.650 acessos, abrange a variabilidade genética de todas as demais. A coleção da Embrapa, mantida em Cruz das Almas, na Bahia, destina-se a material tropical, enquanto as coleções do Instituto Agronômico do Paraná, em Londrina, PR, da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, em Itajaí, SC, e da Estação Experimental de Fruticultura de Taquari, Fepagro, em Taquari, RS, estão orientadas para espécies de clima subtropical (FERREIRA; SANTOS, 2002).

O germoplasma de citros mantido sob a forma clonal no campo tem sido caracterizado e avaliado com base no manual de descritores do IBPGR (1988), com versão revisada e ampliada (IPGRI, 1999).

A pesquisa, alicerçada em ampla variabilidade genética, tem permitido superar as inúmeras crises por que tem passado a indústria citrícola brasileira, principalmente as provocadas por doenças devastadoras, como: tristeza-dos-citros, cancro-cítrico, declínio e, mais recentemente, a clorose-variegada-dos-citros – CVC.

Goiaba (*Psidium guajava*)

Apesar de a goiaba não ter uma importância muito grande no contexto global da fruticultura brasileira, a sua cultura, comercialização e consumo apresentam importância regional significativa.

A pesquisa, tentando acompanhar o desenvolvimento e as demandas da cultura, tem mostrado bons resultados, notadamente na última década, com a obtenção de variedades produtivas e de boa qualidade, tanto para o consumo de fruta fresca como para a indústria.

Esses resultados são devidos, principalmente, à utilização dos recursos genéticos disponíveis. As coleções brasileiras de germoplasma de goiaba contam com um total de 428 acessos, incluindo duplicatas. Das coleções brasileiras, o BAG de goiaba da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, com cerca de 230 acessos, é a principal; as demais são coleções menores, de importância regional. Recentemente, a coleção da Embrapa na região semiárida foi ampliada, como resultado de expedições de coleta realizadas no âmbito do Projeto Internacional Guavamap no território brasileiro.

Maçã (*Malus* spp.)

A maçã é originária da Ásia Central, mais especificamente da região dos Bálcãs, Sudeste da Rússia e Leste da Mongolia. Além disso, existem também espécies nativas de *Malus* na China, Japão, Himalaia e Europa Oriental.

A maçã pertence à família Rosaceae e ao gênero *Malus*, que tem cerca de 30 espécies. As principais espécies que compõem o germoplasma de maçã são: *Malus pumila* (= *M. domestica*), *M. sylvestris*, *M. baccata*, *M. floribunda*, *M. micromalus*, *M. prunifloia*, *M. astrosanguinea*.

Na Tabela 2, mostra-se que, no Brasil, existe um respeitável acervo de germoplasma de maçã, são quase 1.200 acessos distribuídos nas quatro principais coleções do país: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), Iapar e IAC.

No BAG de maçã da Epagri, a maioria (86%) dos 442 acessos pertence à *M. pumila*, porém outras espécies de *Malus* também estão representadas. O material é mantido em coleção no campo no espaçamento de

5 m x 2 m, enxertado sobre o porta-enxerto MM-106. A caracterização e a avaliação do germoplasma vêm sendo realizadas, o que dá subsídio aos programas de melhoramento, a partir dos quais diversas cultivares têm sido lançadas.

Mamão (*Carica papaya*)

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão, de acordo com dados da FAO (2007). Entretanto, devido ao vírus-do-mosaico, limitante nas condições brasileiras, a cultura tem-se caracterizado por uma atividade itinerante.

A manutenção do germoplasma de mamão exige cuidados especiais. É necessário o controle da polinização das variedades dioicas, conservando sempre duas ou três plantas masculinas, a fim de que as flores das plantas femininas sejam polinizadas por pólen da planta masculina selecionada de acordo com as características do acesso. Nas plantas hermafroditas, é preciso autofecundar flores perfeitas. O acervo de germoplasma de mamão contempla cerca de 350 acessos, incluindo duplicatas. As principais coleções são mantidas pela Embrapa e pelo IAC.

No BAG de mamão, localizado em Cruz das Almas, BA, são mantidos cerca de 120 acessos, dos quais a maioria é de *Carica papaya*, porém outras espécies estão representadas, tais como: *Vasconcella quercifolia*, *V. cauliflora e Jaracatia spinosa*. O material é conservado no campo ou sob a forma de sementes. No campo, são mantidas 10 plantas por acesso, no espaçamento de 3 m x 2 m. Para manter a identidade do material conservado, são realizadas polinizações controladas, mediante autofecundação nos acessos hermafroditas e cruzamento entre irmãos nos dioicos. Outra coleção importante é a do IAC, que abriga 169 acessos de Carica.

Formas alternativas para a conservação de germoplasma de mamão estão sendo desenvolvidas. No futuro, a criopreservação em nitrogênio líquido poderá ser um desses métodos, conforme pesquisas preliminares de Althoff (1998) e Salomão e Mundim (2000).

O BAG tem sido ampliado por meio de coletas realizadas recentemente no Brasil (FERREIRA et al., 2005), mas há necessidade de enriquecimento do germoplasma de mamão, notadamente com acessos provenientes dos seguintes países: Colômbia, Costa Rica, Venezuela, África do Sul, Malásia e Taiwan, visando principalmente fontes de resistência as pragas e doenças.

Manga (*Mangifera indica* L.)

As variedades de manga introduzidas no Brasil no século 16 pertenciam ao grupo Filipino, geralmente fibrosas e poliembriônicas, o que não ocorre com as variedades do grupo Indiano, portadoras de melhor qualidade e extremamente variáveis quando plantadas como pé-franco, pois são monoembriônicas. A dominância do grupo Filipino no Brasil por três séculos limitou a expansão da cultura, porém a introdução de cultivares do tipo indiano procedentes da Flórida, na década de 1960, deu um novo alento à cultura, pois seus frutos com pouca fibra, bem coloridos e mais resistentes à antracnose são mais comercializáveis.

Com o advento das variedades americanas, a cultura tomou um grande impulso comercial, conquistando o bom mercado interno e, mais recentemente, o mercado externo, principalmente, Estados Unidos e Europa.

Embora um total de 1.143 acessos de manga no Brasil é apresentado na Tabela 2, o acervo de germoplasma de manga existente atualmente no País está em torno de quase 500 acessos, incluindo as duplicatas existentes entre as sete coleções inventariadas, de acordo com dados compilados por Ferreira e Pinto (2002). Desse total, Donadio e Ferreira (2002) relatam que pouco mais de 200 acessos são distintos, sendo a maioria referente a repetições entre as diversas coleções.

O banco de germoplasma de manga mantido pela Embrapa em Petrolina, PE, reúne o maior acervo existente no Brasil, com 107 acessos.

Maracujá (*Passiflora* spp.)

Diante da ampla variabilidade genética existente na natureza, a disponibilidade de germoplasma de *Passiflora* existente nas coleções brasileiras é muito pequena. A escassez de informações sobre caracterização e avaliação e os poucos os programas de melhoramento existentes em âmbito mundial limitam a ampliação da variabilidade. A maior parte concentra-se em *P. edulis*, porém várias outras espécies estão representadas.

A maioria do germoplasma de *Passiflora* é conservada por coleções de plantas no campo, o que, além de apresentar altos custos e ser trabalhoso, é um sistema bastante vulnerável. Alguns países, no entanto, já iniciaram o sistema de conservação de sementes, como é o caso do Havaí, que utiliza câmaras a 7 ºC, e a África do Sul e o Chile, que utilizam câmaras a -20 ºC, uma vez que as sementes de algumas espécies, como o maracujá, comportam-se como ortodoxas.

No Brasil, o germoplasma de *Passiflora* é conservado no campo, em alguns casos, faz-se a conservação intermediária em câmaras de conservação de sementes, com cerca de 30% de umidade relativa e mais ou menos 10 ºC. Nessas condições, as sementes se mantêm viáveis até médio prazo (pelo menos dois anos).

Estudos sobre a conservação de sementes de Passiflora em longo prazo vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos no Brasil (MELETTI et al., 2004; OSIPI; NAKAGAWA, 2005; MARTINS et al., 2005; FONSECA, 2004).

As principais coleções brasileiras de germoplasma de maracujá estão localizadas na Embrapa, no IAC, no Iapar e na FCAVJ/Unesp. Incluindo as duplicatas, reúnem um total de 391 acessos, de acordo com dados da Tabela 2. No entanto, dados mais atualizados compilados por Ferreira (2005) mostram que, nas oito coleções brasileiras de *Passiflora*, têm-se 63 espécies representadas e cerca de 600 acessos conservados.

A Embrapa dispõe de infraestrutura para conservação de sementes ortodoxas em longo prazo, sob criopreservação em nitrogênio líquido (-196 ºC). Esse método, segundo Althoff (1998), permite que sementes devidamente dessecadas e embaladas mantenham a viabilidade original.

Pera (*Pyrus* spp.)

A pera, à semelhança da maçã, é originária da Ásia Central e de algumas partes da Europa Oriental. Pertencente à família Rosaceae, o gênero *Pyrus* tem mais de 20 espécies, englobando as asiáticas e as europeias. A principal espécie que agrega a maioria das cultivares comerciais é a *P. communis*. Outras espécies, no entanto, podem ser cultivadas comercialmente, ou utilizadas como germoplasma para o melhoramento da pereira, tais como: *P. nivalis*, *P. pyrifolia*, *P. ussuriensis*, *P. bretschneideri*, *P. betulaefolia*, *P. calleryana*. As duas últimas são mais comumente utilizadas como porta-enxerto.

No BAG de pera da Epagri, localizado na Estação Experimental de Caçador, em Santa Catarina, são mantidos 246 acessos, a maioria (90%) pertence à *P. communis*, porém outras espécies também estão representadas. O germoplasma é mantido sob a forma de coleção de plantas no campo, com três exemplares por acesso, num espaçamento de 5 m x 2 m. São utilizados, para porta-enxerto, materiais de *P. communis*, *P. calleryana*, *P. betulaefolia* e o marmeleiro BA-29.

O germoplasma tem sido caracterizado e avaliado, e os resultados alimentam os programas de melhoramento que resultam no lançamento de algumas cultivares.

Pêssego, ameixa e nectarina (*Prunus* spp.)

As prunoideas – pêssego, ameixa e nectarina – são espécies frutíferas, cujo cultivo está em expansão no Brasil, notadamente nas regiões

Sul e Sudeste, principalmente devido à grande demanda do mercado interno e às variedades adaptadas às condições locais.

As prunoideas referem-se ao gênero *Prunus* em que existem inúmeras espécies de interesse agronômico; as principais são *P. persica* (pêssegos e nectarinas) e *P. salicina* (ameixas). Outras espécies de interesse como germoplasma são: *P. domestica*, *P. avium*, *P. amygdalus*, *P. armeniaca*, *P. cerasus*, *P. mume*, *P. mahaleb*, *P. nigra*, *P. kansuensis* e *P. manshurica*.

As quatro principais coleções de germoplasma de prunoideas estão na Embrapa Clima Temperado, Epagri, Iapar e IAC, nas quais consta um acervo superior a 2.200 acessos, incluindo duplicatas e contemplando o germoplasma de ameixa, pêssego e nectarina.

Na Embrapa, são mantidos 776 acessos de pêssego e nectarina, cerca de 170 de ameixa, além de outras espécies de *Prunus*, tais como: *P. avium*, *P. amygdalus*, *P. armeniaca*, *P. cerasus*, *P. mume*, *P. mahaleb*, *P. nigra*, *P. kansuensis*, *P. manshurica*. São conservados, de maneira geral, três exemplares por acesso no campo, no espaçamento de 6,0 m x 1,5 m.

Esse germoplasma tem sido caracterizado e avaliado e a informação gerada subsidia os programas de melhoramento, propiciando a recomendação de cultivares de ameixa, pêssego e nectarina. O acervo de germoplasma de prunoideas tem sido utilizado ainda para intercâmbio, pois as coleções brasileiras necessitam de enriquecimento visando fontes de resistência às principais doenças.

Uva (*Vitis* spp.)

A cultura da videira ocupa uma posição de destaque na fruticultura brasileira. Isso é devido principalmente ao crescimento da indústria vinícola e de sucos, assim como à crescente demanda de uva de mesa visando ao mercado interno e externo. Essa importância tem sido destacada pela produção de uvas, nas condições privilegiadas do semiárido, no nordeste brasileiro.

Existem dezenas de espécies de *Vitis* que são importantes para compor o germoplasma de uva, com destaque a *V. vinifera*, originária no Oriente Médio e *V. labrusca*, originária no centro de diversificação Norte Americano. Embora se reconheça a qualidade superior das cultivares de *V. vinifera*, as cultivares americanas de *V. labrusca* têm grande importância na viticultura nacional, devido à sua maior resistência às pragas e doenças.

Nas três coleções de videira – Embrapa Uva e Vinho, Embrapa Semi Árido e IAC –, são mantidos quase 2 mil acessos de videira. A maior e mais completa coleção está na Embrapa Uva e Vinho, que mantém 1.358 acessos, envolvendo cerca de 40 espécies de *Vitis* e quatro espécies de dois gêneros afins: *Ampelopsis* e *Parthenocissus* (CAMARGO, 1999). Cerca de 50% desse acervo refere-se à *V. vinifera*, 5% à *V. labrusca*, e os 45% restantes a outras espécies ou híbridos interespecíficos. O material é mantido no campo, enxertado sobre RR 101-14, no espaçamento de 2,5 m x 1,5 m, em sistema de condução tipo espaldeira simples. Os porta-enxertos e os acessos de *V. rotundifolia* são mantidos por pé-franco. Os acessos cuja caracterização e avaliação estejam completas são mantidos da mesma forma em miniestufas, com três a quatro plantas por exemplar. A maioria dos acessos tem sido caracterizada e avaliada, com base em descritores e utilizado nos programas de melhoramento, servindo ainda ao intercâmbio com outras instituições e (ou) outros países.

Outras frutíferas

Existem ainda outras 200 espécies frutíferas com potencial para exploração econômica e (ou) social que vêm sendo domesticadas e ou estudadas pelas instituições brasileiras.

Coppens d'Eeckenbrugge et al. (1998), no entanto, alertam para um número bem maior, relatando terem sido catalogadas 1.036 espécies frutíferas americanas, classificadas em 66 famílias e 257 gêneros. Desse

total, mais de 900 espécies são tropicais ou subtropicais. São reportadas, ainda, 1.200 espécies frutíferas na África e 500 no Sudeste Asiático.

O universo dessas espécies de fruteiras não convencionais, menores ou potenciais é enorme. Entre os principais gêneros que abrigam essas espécies, destacam-se *Campomanesia*, *Eugenia* (Myrtaceae); *Byrsonima* (Malpighiaceae); *Pouteria* (Sapotaceae); *Hancornia* (Apocynaceae); *Xylopia* (Annonaceae); *Mauritia*, *Acrocomia*, *Astrocaryum*, *Butia*, *Syagrus*, *Diplotemium*, *Attalea* (Palmae); *Caryocar* (Caryocaraceae); *Peritassa* (Hippocrateaceae); *Hymeneae* e *Dipteryx* (Leguminosae), encontradas no Cerrado (FERREIRA, 1980). Na Amazônia, há imensa quantidade de frutas como açaí, bacuri, cupuaçu, graviola, pupunha, araçá-boi, camu-camu, tucumã, taperebá. No Sul, podemos destacar amora, guabiroba, pitanga, goiaba serrana (feijoa), araçá, uvaia e cereja do mato. É importante destacar que, além de catalogá-las, é imprescindível resgatar a variabilidade existente e conservar esse patrimônio genético, que atualmente é bastante vulnerável.

Referências

ALTHOFF, M. A. **Criopreservação de sementes de mamão, maracujá, citros e café.** 1998. 106 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília. Departamento de Engenharia Agronômica, Brasília, DF.

BIOVERSITY INTERNATIONAL. Disponível em: <http://ioversityinternational.org >. Acesso em: 30 mai. 2007.

CAMARGO, U. A. Banco ativo de germoplasma de uva. In: FERREIRA, F. R. (Ed.). **Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil**. Brasilia, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p. 184-187.

CARVALHO, PAULO CEZAR LEMOS DE, SOARES FILHO, WALTER DOS SANTOS, RITZINGER, ROGÉRIO; CARVALHO, J.A.B.S. Conservation of germplasm of tropical fruits with farmer's participation. **Revista Brasileira de Fruticultura,** v. 24, n. 1, p. 277-281, 2001.

D'EECKENBRUGGE, G. C.; FERLA, D. L.; FERREIRA, F. R. Diversidade potencial das fruteiras neotropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15. **Anais**... (Conferências). Poços de Caldas: SBF, 1998. p. 19-47.

D'EECKENBRUGGE, G. C.; LEAL, F. Morphology, anatomy and taxonomy. In: BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K. G. (Ed.). **The pineapple**: botany, production, and uses. New York: CAB International, 2003. p. 13-32.

DONADIO, L. C.; FERREIRA, F. R. M. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 351-372.

EURISCO. **Eurisco germplasm data portal for Europe.** Disponível em: <http://eurisco.ecpgr.org>. Acesso em: 30 maio 2007.

FAO. **FAOSTAT. Disponível em:** http://jrun.fao.org/servlet. Acesso em: 19 mar. 2007.

FERREIRA, F. R. (Ed.). **Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 190 p.

FERREIRA, F. R. Conservação de germoplasma de espécies frutíferas no campo. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE - SIRGEALC, 3. **Anais**... Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 2001. p. 38-40.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de a*nonáceas*. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Ed.). **Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemoia e cherimólia).** Vitória da Conquista: DFZ/ UESB, 1997. p. 36-41.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de p*assiflora* no Brasil. In*:* SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá**: produção e mercado. Vitória da Conquista, BA: UESB, 1994. p. 24-26.

FERREIRA, F. R. Recursos genéticos de Passiflora. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. V. T.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá**: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 41-51.

FERREIRA, F. R.; ALVES, E. J.; SILVA, S. O. **Coleta e importação de germoplasma salva cultura da banana**, 2004. Disponível em: <http:// www. cenargen.embrapa.br/cenargenda/pdf/salvabanana.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2007.

FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Pineapple germplasm in Brazil. **Acta Horticultura**, v. 334, p. 23-26, 1993.

FERREIRA, F. R.; DANTAS, J. L. L.; MARTINS, V. A.; NORONHA, S. E. Ocorrência e distribuição de Vasconcella e Jacaratia, parentes silvestres de mamão, no Sul e Centro-oeste do Brasil. In: MARTINS, D. F. **Papaya Brasil**: mercado e inovações tecnológicas para o mamão. Vitória: Incaper, 2005. p. 293-297 .

FERREIRA, F. R.; DONADIO, L. C. Evaluation of mango (*Mangifera indica*) progenies open pollinated. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL FRUITS. [**Anais**...]. Vitória: EMCAPA, 1993. p. 9.

FERREIRA, F. R.; EIRA, M. T.; BIANCHETTI, L. B. Recursos genéticos de espécies hortícolas no Brasil. In: SIMPOSIO LATINOAMERICANO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE ESPÉCIES HORTÍCOLAS, 2.,1993. **Actas**. Mar del Plata, 1993. p. 309-325.

FERREIRA, F. R.; GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE ESPÉCIES HORTÍCOLAS, 1., **Anais**... Campinas: Fundação Cargill, 1990. p. 15-26.

FERREIRA, F. R.; PINTO, A. C. Q. Genetic resources. In: PINTO, A. C. Q.; CORDEIRO, M. C. R.; ANDRADE, S. R. M.; FERREIRA, F. R.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; KINPARA, D. I. (Ed.). **Fruits for the future 5**: annona species. Southampton: International Centre for Underutilised Crops, 2005. p. 48-54.

FERREIRA, F. R.; PINTO, A. C. Q. Survey of mango germplasm collections in Brazil. In: INTERNATIONAL MANGO SYMPOSIUM, 7., 2002, Recife. [**Anais**...]. Recife: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. p. 211. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 46).

FERREIRA, F. R.; POSSÍDIO, E. L.; SOARES, N. B.; CASTRO NETO, M. T.; PINTO, A. C. Q.; DONADIO, L. C.; LOPES, J. G. V.; FREITAS, G. B. Germoplasma de manga no Brasil. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO SOBRE MANGA. **Anais**... Vitória da Conquista: UESB, 1999.

FERREIRA, F. R.; SANTOS, I. R. I. Recursos genéticos de citros no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS-MELHORAMENTO, 7., 2002, Bebedouro, Brasil. **Anais**... Bebedouro: Estação Experimental de Citricultura de Bebedouro, 2002. p. 17-25.

FONSECA, S. C. L. **Conservação de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. *F. flavicarpa* Deg)**: interferências do teor de água das sementes e da temperatura do ambiente. 2004. 44 f. Tese (Doutorado). Piracicaba.

FOUQUÉ, A. Espécies frutíeres d'amérique tropicale. **Fruits**, v. 2, n. 1, p. 63-70, 1972.

FRANCO, T. L.; HIDALGO, R. **Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos**. Cali, Colombia: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), 2003. 89 p. (Boletín técnico, 8).

FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. Genetic resources. In: FRANKEL, O. H.; BENNET, E. **Genetic resources in plants their exploration and conservation**. Oxford: Institute Biology Program, 1970. p. 7-12.

GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS. **Anais**... 1992. Cruz das Almas: Embrapa–CNPMF, 1993. 131p.

GIACOMETTI, D. C.; CORADIN, L. Conservação e manejo dos recursos genéticos vegetais no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA, 33. **Anais**... Maceió, 1982. p. 201-215.

GIACOMETTI, D. C.; FERREIRA, F. R. Organização e uso de bancos de germoplasma de frutíferas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9.,1987. Campinas. **Anais**... Campinas, 1987. p. 11-17.

GIACOMETTI, D. C.; FERREIRA, F. R. Situação do germoplasma de espécies frutíferas mais importantes no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1979, Pelotas. **Anais**... Pelotas: SBF, 1979. p. 1245-1258.

IBGE. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>. Acesso: 30 maio 2007.

IBPGR. **Descriptors for citrus**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1988. 27 p.

IBPGR. **Descriptors for pineapple**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1991. 41 p.

IBPGR. **Directory of germplasm collections**: 6. I - tropical and subtropical fruits and tree nuts. Rome: IBPGR, 1992. 337 p.

IBPGR. **Directory of germplasm collections**: 6.II – temperate fruits and tree nuts. Rome: IBPGR, 1989. 296 p.

IPGRI. **Descriptors for citrus**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1999. 66 p.

LACERDA, M. A. D.; LACERDA, R. D.; ASSIS, P. C. O. A participação da fruticultura no agronegócio brasileiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2004.

MARTINS, L.; SILVA, W. R.; MELETTI, L. M. M. Conservação de sementes de maracujá-amarelo (Passiflora edulis Sims. F. flavicarpa Deg). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p.183-189, 2005.

MELETTI, L. M. M.; BARBOSA, W.; VEIGA, R. F. A. Criopreservação de sementes de três espécies de maracujazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., Florianópolis, 2004. **Anais**... Florianópolis, 2004.

MELLO, L. M. R. **Avaliação de impactos econômicos, de tecnologias geradas pela Embrapa Uva e Vinho**: 2005. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 26 p. (Embrapa Uva e Vinho. Série Documentos, 58).

MORGADO, I. F.; AQUINO, C. N. P.; TERRA, D. C. T. Economic aspects of the pineapple culture: seasonally of prices in Rio de Janeiro state. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, 2004.

MUSSER, R. S. Situação atual e perspectivas da acerola. In: SÃO JOSÉ, A. R.; ALVES, R. E. (Ed.). **Acerola no Brasil**: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB,1995. p. 4-6.

NEW SCIENTIST MAGAZINE. A Future with no bananas. **New Scientist**, v. 2551, p. 5, 2006.

OSIPI, E. A.F; NAKAGAWA, J. Avaliação da potencialidade fisiológica de sementes de maracujá-doce (passiflora alata dryander) submetidas ao armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 52-54, 2005.

PAIVA, J. R.; CRISÓSTOMO, J. R.; BARROS, L. M.; PAIVA, W. O. Domesticação e melhoramento genético do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Brasil. **Informativo SBF, Sociedade Brasileira de Fruticultura**, v. 16, n. 2, p. 19-20, 1997.

RASEIRA, M. C. B.; NAKASU, B. H. Melhoramento genético de fruteiras temperadas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 1183 p.

SALOMÃO, A. N.; MUNDIM, R. C. Germination of papaya seed in response to desiccation, exposure to subzero temperatures, and gibberellic acid. **Hortscience**, v. 35, n. 5, p. 904-906, 2000.

SCALOPPI JUNIOR, E. J. **Aspectos fisiológicos em annonaceae e implicação no melhoramento.** Disponível em: <http:// www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=6641>. Acesso em: 23 abr. 2007.

SILVA, S. O. ; MATOS, A. P.; ALVES, E. J. Melhoramento genético de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 693-703, 1998.

SILVA, S. O.; CARVALHO, P. C. L.; SHEPHERD, K.; ALVES, E. J.; OLIVEIRA, C. A. P.; CARVALHO, J. A. B. S. **Catálogo de germoplasma de bananeira (*Musa* spp).** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1999. 152 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Documentos, 90).

VARGAS RAMOS, V. H.; GENU, P. J. C.; PINTO, A. C. Q.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FERREIRA, F. R. **Avaliação de acessos de abacate nas condições de Cerrado de Brasília, DF**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 30 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 112).

VENCOVSKY, R.; CROSSA, J. Measurements of representativeness used in genetic resources conservation and plant breeding. **Crop Science**, v. 43, p. 1912-1921, 2003.

ZAMIR D Improving plant breeding with exotic genetic libraries. **Nature Review Genetics**, v. 2, p. 983-989, 2001.

ZOHARY, D. Centers of diversity and centers of origin. In: FRANKEL, O. H.; BENNET, E. (Ed.). **Genetic resources in plants**. Oxford: Institute of Biology, 1970. p. 33-42.

13

Princípios e Estratégias para o melhor Aproveitamento dos Recursos Genéticos Florestais

Edson Junqueira Leite
Vicente Pongitory Gifoni Moura (*in memoriam*)

Introdução

O aumento da população mundial, junto com a elevação dos níveis de vida, exerce uma pressão contínua sobre as áreas de conservação florestais para uso agropecuário, entre outros (WILLAN, 1973). O consequente desaparecimento em grande escala das florestas naturais leva consigo uma perda acelerada de recursos genéticos[1]. Essa perda é particularmente inquietante nas regiões onde ainda não foram realizadas explorações de prospecção e coleta genecológicas sistemáticas. A falta de conhecimento sobre a composição de espécies e a variação intraespecífica[2] e interespecífica[3] dificulta a adoção de medidas adequadas e oportunas de conservação.

Além da destruição parcial ou total de florestas, zonas de preservação florestal frequentemente são submetidas a formas de exploração

[1] Variabilidade de seres vivos da biodiversidade com uso atual ou potencial.

[2] Prefixo significando dentro: intraespecifíco, intrarracial.

[3] Prefixo significando entre: interespecífico, inter-racial.

mais intensivas, que podem colocar em risco algumas espécies e mudar a composição genética de outras (KEMP et al., 1976). Mesmo quando a parte central da distribuição de uma espécie não é atacada, algumas subpopulações ou procedências[4], especialmente nos limites da distribuição da espécie, podem estar sob perigo. São nessas populações marginais isoladas onde frequentemente têm se desenvolvido, por seleção natural, características específicas, como a tolerância à seca e a outras condições ambientais adversas, que, por conseguinte, podem ser de grande utilidade potencial para áreas submetidas a uma pressão seletiva similar.

A pressão contínua sobre as áreas mencionadas, a crescente demanda por madeira e seus produtos, aliada a dificuldade do manejo das florestas naturais, vêm estimulando os plantios de espécies de exploração relativamente fácil, as quais podem produzir grandes quantidades de madeira por unidade de superfície (WILLAN, 1973). A formação desses plantios alivia até certo ponto a pressão a que as florestas naturais e o material genético nelas contido estejam submetidos, porém ocasiona outros tipos de problemas,tais como, a diminuição da diversidade e a variabilidade genética. Esses plantios oferecem ao engenheiro florestal a oportunidade de exercer um controle muito maior, não só ligado às características do local, como também à qualidade genética de suas florestas (WILLAN; PALMBERG, 1974). Isso permite uma diminuição da utilização de populações silvestres, dando-se preferência a populações mais desenvolvidas, nas quais foram mudadas as frequências de genes para satisfazer necessidades concretas do homem. No entanto, nessas novas populações selecionadas e melhoradas, em que se procura uniformidade, alto rendimento e outros objetivos em curto prazo, a base genética vai se reduzindo a níveis bastante baixos, limitando o acervo ou fundo de genes do qual o material paternal é obtido, rechaçando-se subsequentemente, mediante seleção em condições determinadas, uma grande proporção da população original.

[4] Localização geográfica e ambiental das árvores ou povoamentos fornecedores de material reprodutivo (sementes, propágulos ou pólen). Para essências nativas, o termo confunde-se com origem.

Apesar de se aumentar a adaptação dessas novas populações às condições ambientais da área de plantio, ocorrerá uma diminuição gradual em sua flexibilidade genética e em seu potencial para futuras adaptações, quando ocorrerem mudanças ambientais imprevistas e imprevisíveis, como uma modificação da qualidade média dos locais onde estão situados os plantios; a aparição de pragas e doenças novas ou geneticamente adaptadas; ou um maior nível de contaminação industrial. A restrição da base genética das populações utilizadas na produção de sementes para plantios futuros não causa necessariamente efeitos negativos, desde que a diversidade genética das espécies e procedências seja protegida com medidas de conservação in situ, por meio do estabelecimento de reservas genéticas, áreas protegidas e (ou) populações com base genética ampla, das quais possam ser obtidos material para satisfazer as novas necessidades.

Princípios de Conservação e Utilização dos Recursos Genéticos Florestais

Conceitualmente, os princípios da conservação genética são os mesmos para todos os organismos, sejam esses de vida curta ou de vida longa, domésticos ou silvestres; as necessidades, as oportunidades e os métodos são diferentes nos seus detalhes, porém não o são nos seus princípios mais amplos (FRANKEL, 1970).

A estratégia precisa da conservação depende da natureza do material, dos objetivos e do âmbito da conservação. A natureza do material é definida pelo comprimento do ciclo vital, o modo de reprodução e o estado ecológico dos indivíduos (selvagens ou domesticados); o objetivo pode ser a pesquisa, a conservação estática ou evolutiva, a seleção e a melhora; o alcance se refere ao período e a superfície considerada (FRANKEL, 1970).

As diversas fases ou operações que são reconhecidas como as etapas essenciais para manutenção da variação interespecífica e intraespecífica

de espécies, e para um mais completo aproveitamento dos recursos genéticos existentes, são as seguintes: prospecção; coleta; avaliação; conservação; e utilização (FAO, 1975a).

Prospecção

O uso eficiente dos recursos genéticos existentes só poderá ser alcançado se dispusermos de informação suficiente sobre seu alcance, estrutura e composição (BRAZIER et al., 1976; SNEEP; HENDRIKSEN, 1979; LAMPREY, 1975). Para um grande número de espécies arbóreas, especialmente as tropicais, existe uma grande carência de conhecimento sobre sua ecologia e sua biologia, assim também sobre seu potencial para reflorestamento e o aproveitamento industrial de sua madeira, seus produtos não madeireiros e derivados dos mesmos. Mesmo considerando as espécies de valor já comprovado, os aspectos de sua variação não foram ainda suficientemente estudados ao longo de toda sua distribuição natural. Essa falta de informação foi evidenciada quando foram observados os recursos genéticos de cada uma e também de todas as espécies estudadas durante as últimas décadas em programa coordenado pela Food and Agriculture Organization (FAO), em que existe o perigo iminente de diminuição, esgotamento ou de contaminação em alguns pontos do seu habitat. Mesmo em áreas onde o acervo genético não é considerado como em perigo de extinção, as populações já foram tão reduzidas, que a produção de sementes é muito limitada e pode diminuir ainda mais no futuro (KEIDING; KEMP, 1978).

A prospecção, aliada à coleta de germoplasma, é uma das linhas de pesquisa que mais se beneficia do uso disciplinado de métodos científicos sistemáticos, planejamento preciso, com amplo período de preparo e intensa consulta a fontes (literatura, herbários, especialistas). Ações de prospecção requeridas onde o nível de conhecimento científico é insuficiente e a locomoção difícil precisam ser apoiadas pelos modernos

Sistemas de Informação Geográfica. Ainda assim, dependem de profundos conhecimentos sobre a taxonomia, distribuição geográfica, ecologia e modo de reprodução das espécies-alvo, por parte dos componentes da equipe de prospecção e coleta[5] (SILVA; SALOMÃO, 2005).

Os estudos de campo, na fase fundamental da exploração, podem ser subdivididos da seguinte maneira: exploração botânica; e exploração genecológica. A prospecção e coleta incluem a identificação taxonômica das espécies e o conhecimento dos limites de sua distribuição, dando destaque especial às populações isoladas.

Na exploração genecológica, são estudados os módulos de variação ecológica e fenotípica dentro da faixa natural de distribuição da espécie, pela coleta de sementes de procedências e ensaios das mesmas.

Coleta para avaliação

A coleta para avaliação consiste no recolhimento de amostras de sementes relativamente pequenas de um número relativamente elevado de procedências, representativas de toda a gama de distribuição natural da espécie.

Na fase inicial, a coleta compreende uma amostragem de toda a área de distribuição por mais ampla que seja. Nesse caso, deve-se trabalhar com a coleta de 10 a 20 indivíduos por procedência ou população, mantendo-se uma distância mínima de 100 m a 200 m entre indivíduos coletados (FAO, 1995). Em alguns casos, será necessária uma segunda fase, em que uma amostragem limitada da gama de distribuição será realizada em uma área menor, quando os resultados dos ensaios da primeira fase já estiverem disponíveis. Nessa segunda fase, as sementes coletadas devem ser mantidas separadas por árvores matrizes, para permitir uma avaliação da variação genética dentro e entre procedências. Os fundos de genes

[5] Comunicação pessoal de José F. M. Valls, 2005.

incluídos nas coleções podem ser de material indígena ou introduzido. Na silvicultura, esses últimos, chamados de "raças locais"[6], são de grande importância potencial como fornecedores de sementes e devem ser incluídos nas coleções (FAO, 1975a; TURNBULL, 1978).

Para determinar o número e a localização das populações a serem amostradas, devem-se seguir sempre os gradientes ambientais; a amostragem dentro de cada população pode ser feita ao acaso ou seletivamente. Ainda que esse último sistema seja o mais utilizado na amostragem interna da população, deve ser lembrado que nem sempre uma superioridade fenotípica assegura uma superioridade genética, especialmente quando não se conhece o histórico da população (BARNER, 1974; BENNET, 1970).

Avaliação

A coleta de amostras de toda a gama de distribuição natural da espécie deve ser acompanhada de ensaios de procedências destinados a revelar a variabilidade, a potencialidade, o grau de adaptação a uma série de condições ambientais e o valor econômico ou social das espécies/procedências ensaiadas. A avaliação deve ser realizada no maior número de estações e, sempre que possível, com uma coordenação central.

Conservação

O desenvolvimento do conceito de conservação genética nos anos 1950 foi devido principalmente à consciência de que as cultivares primitivas da agricultura tradicional estavam desaparecendo rapidamente, e a diversidade genética acumulada nelas durante muitos séculos estava sendo substituída por variedades selecionadas e melhoradas para satisfazer necessidades em curto prazo. É importante manter a diversidade

[6] Raça não nativa adaptada a uma determinada área geográfica.

genética e os fundos de genes originais para que eventualmente possa se introduzir, a partir deles, nas variedades recém-desenvolvidas via seleção e genética, genes adicionais, com a finalidade de melhorar a adaptação, o rendimento e a resistência a doenças e a condições desfavoráveis, já que existem evidências concretas do surgimento de enfermidades importantes, especialmente em culturas produtoras de alimentos (FRANKEL, 1978; SNEEP; HENDRIKSEN, 1979). Não só devemos conservar a variabilidade dentro de espécies de valor econômico conhecido como também se deve manter a máxima diversidade interespecífica, inclusive o material desconhecido e ainda não ensaiado, mantendo assim uma abertura para opções futuras (WHITMORE, 1975a).

A conservação propriamente dita abrange a preservação e a utilização; a conservação é, de fato, um aspecto do manejo dos recursos que garantirá sua utilização sustentável, bem como uma protegida diversidade genética, essencial para sua manutenção.

Com frequência, na escolha das estratégias em longo prazo para conservação e utilização dos recursos genéticos, é inevitável se firmar compromissos entre os fatores biológicos, técnicos, econômicos e administrativos. O objetivo final será a eleição de métodos que reduzam ao mínimo as perdas e permitam um máximo de benefícios em termos de utilidade, conhecimento e integridade (FRANKEL, 1970a).

Os atuais problemas da conservação genética são frequentemente tão graves que existe sempre a tentação de se ocupar deles unicamente. Sem dúvida, as estratégias de ação devem incluir também ações preventivas, mediante a inclusão de elementos de conservação no planejamento em longo prazo, aos níveis de adoção de políticas, organização e técnica (ANON, 1980).

As principais estratégias de conservação são as seguintes (BURLEY; STYLES, 1976):

Conservação de ecossistemas

A conservação de áreas cuidadosamente selecionadas, de tamanho adequado, adotando-se políticas idôneas de manejo, preservaria não só as árvores como também outros elementos do ecossistema (plantas, mamíferos, pássaros, insetos etc.), assim como vários produtos de valor atual ou potencial, tais como extrativos, frutas etc.

Com relação à preservação de espécies raras e de espécies ou populações ameaçadas de extinção, esse objetivo poderia ser alcançado com um procedimento geral de conservação de ecossistemas, se aplicado de maneira competente. Poderia também ser alcançado, conservando-se o material em reservas in situ ou bancos de germoplasma ex situ.

Para que haja a prevenção da erosão genética, isto é, o esgotamento da variabilidade genética, não basta conservar apenas uma espécie, devemos garantir a conservação de um amplo espectro de variabilidade genética que sirva de reserva para necessidades presentes e futuras (provedores adequados de sementes, ampla variabilidade genética como base para a melhora de árvores, etc.). Esse material pode ser conservado nas reservas in situ, ou podem tomar-se amostras de sementes, pólen ou material vegetativo, de maneira que se garanta a conservação da maior parte da variabilidade genética. A semente, o pólen ou outro material podem ser armazenados como tal, ou utilizados no estabelecimento de áreas de conservação ex situ, chamados bancos de germoplasma.

Conservação in situ

A conservação in situ é a conservação de espécies/procedências como parte de um ecossistema viável e existente; é a forma ideal para a conservação dos recursos genéticos florestais, desde que se tenha como condição básica, a proteção plena da área e que o material genético conservado possa ser utilizado tanto dentro como fora do país de origem (FAO, 1975a; WHITMORE, 1975a; WHITMORE, 1975b; LAMPREY,

1975; IUCN, 1978). Para muitas espécies das florestas tropicais úmidas que são de crescimento lento e que ocorrem isoladas na floresta e raramente em grupos ou talhões, e para as quais os conhecimentos acerca da ecologia e da genética são escassos ou mesmo inexistentes, a conservação in situ é o único método de conservação de que dispomos, no estado atual dos conhecimentos (KEMP, 1978).

É reconhecido que o conhecimento sobre as relações de diversidade genética de uma espécie, a heterogeneidade de seu habitat e a escala de sua adaptação são importantes para entender seus mecanismos evolutivos e ecológicos, bem como suas comunidades bióticas associadas. Esse conhecimento também é importante para a conservação da espécie (e.g.: prioridade no estabelecimento de reservas genéticas, amostragem para coleções ex situ e prospecção de material para restauração ecológica), sua reprodução satisfatória e sua adaptação futura a condições ambientais modificadas (BOSHIER; AMARAL, 2004).

A conservação in situ dos recursos genéticos florestais deverá ser frequentemente combinada com outros objetivos ambientais, científicos e socioeconômicos, isto é, os objetivos de uma reserva genética não devem ser encarados de uma maneira isolada, e sim no seu todo, inclusive considerando a conservação em bancos de germoplasma ex situ como complementar à conservação in situ.

A conservação do acervo de genes muitas vezes tem como objetivo diferenças genéticas que não podem ser diretamente identificadas, apenas por meio de suposições. Trata-se da conservação de amostras ou partes da população, possivelmente em seções latitudinais ou altitudinais, frequentemente zonas amplas, para que seja nelas incluído um espectro da variabilidade ecológica para se obter o espectro correspondente da variabilidade genética. Infelizmente, a seleção e o estabelecimento dessas reservas têm sido baseados em critérios não genéticos, no âmbito de ecossistema, com seu desenho e manejo influenciado muito mais por fatores políticos, sociais ou econômicos (BOSHIER; AMARAL, 2004).

A eficiência da conservação do ecossistema (por exemplo, reservas da biosfera, parques nacionais, reservas biológicas), para satisfazer adequadamente as necessidades de conservação do acervo de genes, mantém uma relação estreita com o tamanho, número, distribuição e localização dessas reservas. Além do mais, devido aos seus ciclos de vida longos, as espécies florestais produzem gerações sobrepostas, que, por sua vez, reduzem o tamanho efetivo de populações e consequentemente exigem maiores áreas mínimas para conservação (BOSHIER; AMARAL, 2004).

Já existe um consenso de que a conservação de amostras representativas da maioria dos ecossistemas faz necessária uma superfície que pode variar de 100 ha a 1.000 ha, dependendo do tamanho exato e da heterogeneidade da zona, como também da composição de suas espécies (ASHTON, 1976). Sem dúvida, do ponto de vista da conservação dos recursos genéticos intraespecíficos, mais do que a superfície da reserva per se, deve-se considerar a inclusão de um número mínimo de indivíduos reprodutores, necessários ao estabelecimento de um acervo de genes viáveis, ou seja, de uma população que possa manter sua capacidade de autorrenovação.

Considerando os recursos genéticos em relação a uma espécie, Ashton (1976), trabalhando com espécies da floresta tropical úmida de Kalimantan, antiga Borneo, fez uma estimativa teórica da superfície florestal necessária à conservação, supondo arbitrariamente que 200 indivíduos maduros constituiriam em uma população viável; com base nesse critério, seria necessário uma superfície de pelo menos 2 mil hectares de floresta virgem não modificada para conservar as espécies arbóreas da região examinada, apesar de que em 1 mil hectares estaria protegendo apenas 60% das espécies.

No âmbito intraespecífico, Dyson (1975), o qual estudou números de indivíduos necessários para a manutenção de uma população reprodutiva efetiva de animais, concluiu que 200 indivíduos constituiriam uma população mínima "segura" para a manutenção da variabilidade genética das

espécies florestais, desde que, na área amostrada, além da área central, fossem incluídas mais duas áreas dos extremos periféricos de sua distribuição natural.

Kemp et al (1993), discutindo o assunto tamanho de áreas de conservação, afirma que um número mínimo de 50 indivíduos adultos seria necessário para manter em prazo curto o desempenho da população e 500 para sustentar mudanças genéticas a adaptabilidade em programas mais longos. Um número de 1 mil indivíduos também tem sido sugerido como desejável para se manter um "potencial de evolução", enquanto, em outro extremo, estimou-se que um tamanho geneticamente efetivo menor do que 50 poderia ser adequado por várias gerações e que quase toda a variabilidade genética de uma população poderia ser conservada temporariamente com apenas poucos indivíduos para cruzamento (SOULÉ; WILCOX, 1980).

Ciampi et al. (2007) corroboram tais asserções quando afirmam que

> "sabe-se que os indivíduos adultos de uma mata fechada, embora em menor número, são aqueles que efetivamente contribuem com a maior proporção de variabilidade genética existente na população e devem ser o alvo prioritário do estabelecimento de reservas genéticas in situ".

Para espécies de vida longa, tais como árvores, as quais estejam sob algum grau de manejo fora da faixa de sua distribuição natural, nomeadamente aquelas espécies de reconhecido valor econômico, o tamanho da população individual é de importância menor do que a distribuição de áreas de conservação na amostragem de tendências de diversidade pela faixa de distribuição da espécie. Na ausência de informação dessas formas, dentro de uma espécie, a conservação de populações de poucas centenas de indivíduos nos extremos das faixas geográficas e ecológicas é a opção mais prática. Entretanto, para as altamente heterogêneas florestas tropicais úmidas contendo algumas centenas de espécies, onde cada uma delas ocorre com frequência baixa, áreas de conservação de 5 mil hecta-

res são sugeridas em base não muito seguras, estimando-se que uma área desse tamanho poderia cobrir 95% das espécies (ASHTON, 1984).

As teorias acerca das vantagens relativas de uma reserva grande ou de várias reservas menores têm sido amplamente estudadas. A resposta dependerá dos exatos objetivos da conservação, da quantidade de variação inter e intraespecíficas que devam ser considerada, e da distribuição da frequência de genes. Do ponto de vista do manejo, uma ou poucas zonas de grande extensão seriam preferíveis, já que elevado número de reservas dispersas é de difícil manejo e proteção. Sem dúvida, especialmente nos casos das zonas com uma composição complexa de espécies, e quando se objetiva conservar a variação intraespecífica de espécies extensamente distribuídas, seria interessante se ter uma série de reservas estrategicamente situadas para favorecer uma amostra de toda variação ecológica e genética. Nesses casos, deveria incluir os ambientes extremos e populações marginais, nos quais os efeitos da seleção natural possam ter criado variedades ou ecotipos de especial valor potencial, e cujas frequências gênicas possam ser distintas das da população principal, dando assim maior oportunidade de capturar os chamados "genes raros" (NAMKOONG, 1979a; NAMKOONG, 1979b).

Conservação ex situ

Ainda que teoricamente a conservação in situ seja a estratégia mais eficaz, nessa técnica podemos enfrentar enormes dificuldades de caráter social, político, ou financeiro, até mais que técnico (SATRAPRADJA et al., 1978; KEMP et al., 1976). Assim, um procedimento alternativo, ou melhor, complementar, de conservação é o método ex situ. A conservação ex situ é especialmente útil para certas espécies ou gêneros com uma combinação de características biológicas que os tornam idôneos para a aplicação desse procedimento. O conhecimento profundo do sistema de reprodução e da biologia das espécies, assim como a metodologia do cultivo em plantios e do armazenamento das sementes, são requisitos prévios para o emprego dessa estratégia. Muitas das espécies que nos

últimos anos têm atraído a atenção dos engenheiros florestais por suas possibilidades de emprego em reflorestamentos de alto rendimento estão incluídas nessa categoria.

Às vezes, principalmente no caso de espécies valiosas usadas em reflorestamento, pode ocorrer uma modificação genética extensa nas florestas nativas, causadas pela interferência do homem (LIBBY et al., 1978). Essa situação acontece quando populações exóticas são utilizadas na obtenção de sementes e no subsequente estabelecimento de reflorestamentos próximos às áreas nativas. Nuvens de pólen das plantações de procedências exóticas se dispersam rapidamente sobre as populações nativas, dando lugar a progênies crescentemente contaminadas pelos genes das populações estranhas, com a consequente perda gradual do acervo original de genes. Nesses casos, o sistema de conservação in situ não será aplicável, e a única maneira de conservar a população original será aplicando-se o procedimento ex situ.

Coleta para conservação ex situ

Quando a fase de prospecção demonstra que algumas populações estão em perigo, porém não é possível aplicar o sistema de conservação in situ, é necessária uma rápida coleta de quantidades substancias de sementes ou outro material de propagação das procedências em perigo, tanto para serem armazenadas temporariamente ou para serem usadas imediatamente na formação de áreas de conservação ex situ (FAO, 1975a). Uma regra necessária e que pode ser seguida como resultado de ações de prospecção é realizar coleta somente em anos de alta produção de sementes, fato muito comum em espécies árboreas (FAO, 1995). A amostragem para avaliação (isto é, uma amostragem aleatória, mais do que seletiva) é essencial para conservar a integridade das frequências de alelos (FRANKEL, 1970b).

Namkoong (1979a) examina os métodos de amostragem para conservação dos genes e o número teórico de indivíduos necessário para

manter a variação intraespecífica, calculando níveis de probabilidade de perda de alelos específicos que se encontram em frequências determinadas, utilizando intensidades diferentes de amostragem dentro e entre as populações. É recomendada a coleta em maior número de indivíduos quando se objetiva a conservação ex situ. Assim, deve-se coletar de 25 a 50 indivíduos por população ou procedência (FAO, 1995).

Não é possível enunciar normas e diretrizes gerais para a amostragem, já que muitos fatores, inter-relacionados ou independentes, afetam a variação intraespecífica que estamos tentando capturar (heterogeneidade e tamanho de toda gama de distribuição natural, ecologia, sistema de reprodução e estrutura da população das espécies e outros). Sem dúvida, como não existe nenhum sistema de amostragem e coleta que permita salvar todas as combinações presentes em uma espécie, a amostragem deve ter o objetivo de salvar o maior número possível de alelos existentes para sua futura recombinação e uso (NAMKOONG, 1979a). Assim, nosso objetivo será mais de conservar e avaliar genes do que genótipos. Nesses casos, é interessante amostrar o maior número possível de procedências ou populações, mesmo que o número de indivíduos amostrados seja mínimo, pois a probabilidade de estarmos amostrando a maior parte da variabilidade genética presente na espécie é significativa (BOTHMER; SEBERG, 1995).

Armazenamento de sementes e de outros materiais reprodutivos

Além de constituir um meio de conservação por si mesmo, o armazenamento de sementes é frequentemente um vínculo essencial entre a coleta e as posteriores operações de campo. Uma manipulação meticulosa da semente durante todas as fases do trabalho é essencial. Para muitas espécies, sobretudo nos trópicos, não existem conhecimentos suficientes sobre métodos práticos de armazenamento em curto e longo prazo, é necessário, portanto, pesquisar urgentemente essa questão.

O banco de germoplasma de espécimes florestais deve ser preferencialmente constituído de indivíduos adultos mantidos em cultivo, contra-

riamente ao que ocorre com as espécies agrícolas, em que geralmente as sementes é que são armazenadas.

Essa diferença de critério se deve principalmente a dificuldade prática. Os bancos de genes vegetais deveriam regenerar suas coleções de sementes sempre que a viabilidade caia para um máximo de 15%, abaixo do valor inicial de armazenamento (WANG, 1978; IBPGR, 1976). No entanto, devido ao longo período vegetativo que transcorre até que as árvores produzam sementes viáveis, a regeneração de sementes mediante o cultivo e a coleta será um procedimento prolongado e caro. Além disso, a seleção natural durante esse longo período surtirá provavelmente efeitos mais graves e radicais na composição genética que no caso de espécies que produzam sementes pouco tempo depois do semeio.

Com os conhecimentos que dispomos acerca da fisiologia e bioquímica do pólen e dos tecidos, a conservação de recursos genéticos florestais nessas formas não garante que constituirá mais que um suplemento útil de outras formas de conservação. Ainda que o armazenamento de pólen seja um método útil para a conservação em curto e médio prazo, o período de vida do pólen, quando se utilizam técnicas conhecidas de secagem e armazenamento, é geralmente mais breve e menos confiável que o da semente. Assim mesmo, com a possível exceção das espécies propagadas vegetativamente, não se acredita que a conservação de recursos genéticos florestais mediante o cultivo de tecido adquira uma grande importância no futuro imediato (WANG, 1978; FRANKEL, 1978).

Áreas de conservação ex situ

As áreas de conservação ex situ ou bancos de germoplasma são onerosos para serem estabelecidos e mantidos e, por conseguinte, devem ser limitadas às espécies de valor comprovado e de potencial evidente (FAO, 1975a; CROMER, 1976; KEMP, 1976). O perigo de extinção, o potencial econômico e a dificuldade de obtenção de sementes deveriam ser os principais critérios no estabelecimento de listas prioritárias de espécies e procedências para a conservação. Guldager (1978) enumera quatro ob-

jetivos de conservação que podem cumprir-se com o estabelecimento de áreas de conservação ex situ:

a. Conservação estática, com a qual se mantêm as frequências genotípicas da população original. Como já foi indicado anteriormente, esse método não é praticável para a maioria das espécies florestais.

b. Conservação estática, com a qual se mantêm as frequências de genes (alelos) da população original. Não se perde nenhuma informação genética, e todos os genótipos encontrados na população original poderiam reproduzir-se, em princípio, ainda que as frequências genotípicas das áreas de conservação ex situ sejam diferentes das da população original.

c. Conservação evolutiva, na qual se permite que as frequências de genes da área mudem segundo as pressões da seleção natural.

d. Conservação seletiva, na qual as frequências de genes da área sejam mudadas deliberadamente de maneira artificial a fim de capturar as características importantes para a economia das plantações da região e ao próprio tempo eliminar as características indesejáveis. Para evitar uma diminuição do potencial genético com o objetivo de estabelecimento futuro de plantações em ambientes diferentes do ambiente original dessa área, será necessário repetir o processo em cada área potencial de reflorestamento. De uma maneira ampla, a conservação seletiva enfrenta os mesmos problemas que os programas de cultivo em longo prazo, ou seja, problemas de manutenção da variação genética, evitar a hibridação entre outros.

Até agora, as áreas de conservação ex situ conhecidas correspondem às categorias conservação evolutiva e conservação seletiva. O nível de manutenção da integridade genética nessas áreas depende de três fatores principais (GULDAGER, 1978): (a) amostragem da população original; (b) sobrevivência e crescimento dos genótipos amostrados ex situ (isto

é, adaptação às novas pressões de seleção); e (c) o cruzamento entre os genótipos amostrados ex situ.

A amostragem para a conservação foi examinada anteriormente. Por mais intensos que sejam os esforços para manter as frequências genéticas originais, mediante um manejo cuidadoso em uma série de áreas de conservação ex situ, de pouco servirão do ponto de vista da conservação de espécies/procedências se a frequência genética já mudou consideravelmente durante a amostragem inicial. Assim sendo, a amostragem é de importância crítica. O armazenamento durante longos períodos ou o tratamento pouco cuidadoso das sementes são outros fatores que podem afetar criticamente as frequências genéticas, mesmo antes do estabelecimento das áreas de conservação.

Para a maioria das espécies florestais usadas em reflorestamento, é possível combinar a seleção de áreas adequadas com técnicas eficientes de viveiros e plantio para garantir próximo de 100% de sobrevivência no campo. A competição inicial entre os genótipos pode ser reduzida ao mínimo por meio de um amplo espaçamento. A escolha entre o desbaste mecânico e o desbaste seletivo nas áreas reflorestadas dependerá do objetivo principal da conservação e das possibilidades práticas. Não obstante, se as áreas forem estabelecidas em muitos lugares diferentes onde as pressões ambientais variam, é provável que se mantenha uma grande proporção da variação genética, ainda que o desbaste favoreça os fenótipos desejados. Como compromisso, pode-se selecionar fenotipicamente uma proporção das árvores que se deixarão em pé (por exemplo, 1%), antes de se realizar um desbaste sistemático no resto da área. Esse é o sistema que se utiliza no caso de áreas internacionais mencionadas.

Nossas possibilidades de transmitir com precisão a informação genética entre a primeira geração das áreas de conservação ex situ é a seguinte: depende do cruzamento dentro da área (sincronização da floração, proporção de cruzamentos aleatório real e outros), do tamanho da população (que influi na deriva genética e o coeficiente de consanguinidade) e da migração, em termos de contaminação de pólen. Para superar

esses problemas, devem considerar-se cuidadosamente a localização (ótima ou quase ótima para a floração e produção de sementes); o tamanho (o tamanho recomendado é de 10 ha a 30 ha (FAO 1975a; FAO, 1977); e o isolamento (300 m ou mais entre as espécies/procedência hibridizantes) (FAO, 1975a).

Além de uma escolha cuidadosa do local, as áreas de conservação necessitam de sistemas meticulosos de preparação, plantio e manutenção (FAO, 1975a). Uma condição indispensável do estabelecimento de uma área em uma região é que nela existam suficientes conhecimentos técnicos, assim como uma organização estável para garantir um alto nível de manejo em longo prazo.

Além das vantagens em longo prazo da conservação de espécies/procedências de características genéticas conhecidas, as áreas de conservação oferecem valiosas possibilidades de utilização em curto prazo, tais como, o fornecimento de sementes e outro material genético para uso imediato. Quando é possível obter financiamento internacional, acordos têm sido realizados para garantir que as áreas beneficiem a todos os países interessados nas espécies/procedências.

Disseminação de informação

Existe outro aspecto da conservação, que é a conservação e difusão de informação. Não só é importante conservar zonas, unidades, populações e indivíduos, como também a informação relativa aos mesmos seja registrada, protegida e ministrada adequadamente. Essas atividades apenas poderão ser realizadas com um sistema informatizado amigável e completo o suficiente aos moldes do GRIN americano, que permita a disseminação e, consequentemente, o uso das informações e do germoplasma, em última instância.

Utilização

A utilização é o último objetivo de todas as atividades relativas aos recursos genéticos florestais. Compreende tanto o fornecimento de se-

mentes ou outro material de propagação para projetos de reflorestamento em grande escala como o desenvolvimento de subpopulações, por via genéticas, e genótipos melhor adaptados e mais adequados às condições locais.

À medida que a informação é conseguida dos ensaios de procedências, em relação às fontes mais adequadas de sementes, tem-se que fazer grande esforço para que as sementes utilizadas sejam daquelas procedências mais adaptadas às condições locais. O fornecimento desse material deve estar a cargo principalmente dos serviços florestais do governo por meio dos órgãos de comercialização de sementes. Ainda é essencial que, nos acordos internacionais e nacionais, sejam estabelecidos critérios e normas comuns sobre a qualidade genética e fisiológica do material (FAO, 1975a).

A seleção e melhora individual de procedência localmente adaptada constitui um método para a posterior melhora das características selecionadas. No caso de espécies introduzidas ou exóticas, uma fase intermediária importante entre os ensaios de procedências e o reflorestamento em grande escala com as procedências melhor adaptadas pode ser o estabelecimento de um ou mais blocos (5 ha ou mais) dessas procedências que sirvam como áreas produtoras de sementes e também como base para a seleção e melhora local. Essas mesmas áreas podem servir algumas vezes para os fins de conservação ex situ.

Necessidades de Ação Internacional

Se considerarmos simultaneamente a urgência da conservação e os esforços maciços necessários para que ela aconteça, notar-se-á claramente que a conservação dos recursos genéticos mundiais necessitará da cooperação de todos os países.

Ainda que os progressos do melhor aproveitamento de recursos genéticos florestais sigam dependendo em grande escala dos esforços dos

países ou das instituições de pesquisa, estes só podem ser plenamente atingidos em um contexto internacional (FAO, 1975a). A manutenção da diversidade genética das espécies in situ ou ex situ tem que ser realizada em ambientes diferentes de muitos países; a coleta de sementes não pode ser limitada às fronteiras nacionais; uma pesquisa coordenada que proporcione informação sobre as espécies/procedências num número máximo de lugares possíveis será de grande interesse para as instituições e os países cooperantes; deve-se garantir a perpetuação, a segurança e a permanência de coleções de material genético irrecuperáveis in situ ou ex situ mediante acordos sob supervisão internacional.

Muitos países que possuem recursos genéticos florestais de grande valor potencial, porém às vezes inexplorados, encontram-se em uma fase inicial de seu desenvolvimento econômico. Frequentemente existe uma grande escassez de recursos financeiros e de pessoal capacitado no setor florestal, e as reservas disponíveis são utilizadas nas necessidades mais prementes nacionais, como exemplo, no estabelecimento de espécies prioritárias (ROCHE, 1978). Para tanto, é muito desejável obter recursos internacionais para contribuir na preparação de estratégias e salvaguarda de material valiosíssimo para muitos países.

A melhor maneira de garantir uma coordenação eficiente no amplo setor dos recursos genéticos florestais é adotar um programa global como o proposto pelo quadro de peritos da FAO em recursos genéticos florestais (FAO, 1975a). Esse programa deve promover a integração das medidas de conservação com as atividades igualmente importantes de exploração, coleta e utilização. Em tempo próprio, deve-se melhorar a eficiência mediante a coordenação de esforços não só dos países como também de vários organismos internacionais que se ocupam dos recursos genéticos (ROCHE, 1978).

Clonagem

A propagação vegetativa é o método mais utilizado ultimamente para multiplicar material selecionado em plantações florestais nos trópicos.

Muito embora a multiplicação clonal não seja um método de melhoramento genético, pois não há ganho qualitativo ou quantitativo no plantio, trata-se de uma técnica que traz vantagens de escala, considerando que as características da planta resultante mantêm aquelas mesmas do material que foi usado para a multiplicação (EVANS; TURNBALL, 2004).

Evans e Turn ball (2004) também afirmam que é importante ressaltar os ganhos associados com a multiplicação clonal em híbridos, principalmente pela rapidez com que esses ganhos são adquiridos.

As vantagens das plantações clonais são: a superação da dependência de oferta inadequada de sementes; a captura de ganhos genéticos; o uso de híbridos; uniformidade; adaptação; resistência a enfermidades; custo reduzido de produção de madeira.

Os diferentes tipos de propagação vegetativa para clones podem ser estacas, enxertos ou, mais recentemente, a micropropagação. A estaquia é o método mais utilizado em plantações em larga escala, enquanto outras técnicas são geralmente mais utilizadas em menores escalas e fins específicos, como pesquisa. (BERTOLLOTI et al., 1979; EVANS; TURNBALL, 2004).

As alternativas para diminuir a pressão sobre recursos madeireiros de florestas nativas e produzir um aumento de produção de modo a atender a demanda são o aumento da área produtiva atual, seguido do aumento da produtividade nas áreas já ocupadas. Entre as estratégias para se vencer esse desafio, destaca-se o melhoramento genético florestal (MENDES; PAULA, 2009).

Marcadores Genéticos e Marcadores Específicos (SSRs)

A variabilidade genética é a base da biodiversidade e pode ser acessada por meio de marcadores genéticos. A associação de técnicas moleculares às técnicas tradicionais de melhoramento propicia um grande avanço na obtenção de resultados.

Assim os marcadores moleculares funcionam como ferramentas auxiliares no melhoramento genético florestal permitindo, entre outros, avaliações da adequação da base genética de populações florestais para utilização em programas de melhoramento.

Entre os marcadores moleculares atualmente empregados, merecem destaque os microssatélites ou sequências simples repetitivas (SSRs) por serem considerados ideais para estudos genéticos e de melhoramento, uma vez que combinam vários aspectos de interesse: a codominância; a multialelismo; o alto polimorfismo; a dispersão abundante e uniforme em genomas de plantas; e a eficiente detecção por reação em cadeia da polimerase (PCR).

Entretanto, para a execução de análises genéticas via PCR de microssatélites, faz-se necessário o desenvolvimento de primers que possibilitem o reconhecimento dos loci de interesse e isso requer o conhecimento da sequência de DNA flanqueadora a esses loci.

Transferência de Primers entre Espécies e Híbridos de Eucaliptos

Existem primers desenhados para espécies mais utilizadas para produção de papel e celulose, como é o caso do *Eucalyptus grandis*; em contrapartida, existem espécies e híbridos do gênero *Eucalyptus* que não possuem sequências específicas desenhadas, como *Eucalyptus exerta*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus grandis* x urophylla, e *Eucalyptus grandis* x *camaldulensis*.

A transferabilidade de primers microssatélites reduz consideravelmente os custos e o tempo das investigações genéticas. Quando as espécies envolvidas na transferabilidade são proximamente relacionadas, têm-se maior chance de partilhar sítio de ligação de primers microssatélites do que em espécies menos próximas, mas é possível transferir primers funcionais mesmo entre espécies mais distantes (MENDES; PAULA, 2009).

Referências

ANON. **World conservation strategy**: living resource conservation for development. Gland: IUCN: UNEP: WWF: FAO, 1980.

ASHTON, P. S. Factors affecting the development and conservation of tree genetic resources in South-East Asia. In: BURLEY, J.; STYLES, B. T. **Tropical trees**: variation, breeding and conservation. Oxford: Linnean Society, 1976.

BARNER, H. Classification of sources for procuremente of Forest reproductive material. In: FAO/DANIDA. **Training course on forest tree improvement**. Limuru: FAO: DEN: TF, 1973.

BENNET, E. Yatics of plant exploration. In: FRANKEL, O. H.; BENNET, E. **Genetics resources in plants**: their exploration and conservation. Oxford: Blackwell Scientific Publications, [19--?]. (IBP Handbook, No. 11).

BERTOLOTTI, G.; MORA, A. L.; GONÇALVES, A. N.; FERREIRA M. **Propagação vegetayiva em *Eucalyptus* e *Pinus***. [S.l.]: IPEF, 1979. (Circular Técnica, 54.)

BOSHIER, D.; AMARAL, W. Threats to forest ecosystems and challenges for the conservation and sustainable use of forest genetic resources. In: VICENTI, B.; AMARAL, W.; MEILLEUR, B. (Ed.). **Challenges in managing forest genetic resources for livelihood**: examples from Argentina and Brazil. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. p. 7-28.

BOTHMER, R.; SEBERG, O. Strategies for the collecting of wild relatives. In: GUARINO, L.; RAMANATA, R. V.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 93-111.

BRAZIER, J. D.; HUGHES, J. F.; TABB, C. B. Exploration of natural tropical forest resources and the need for genetic and ecological conservation. In: BURLEY, J.; STYLES, B. T. **Tropical trees**: variation, breeding and conservation. Oxford: Linnean Society, 1976.

BURLEY, J.; NIKLES, D. G. **Selection and breeding to improve some tropical conifers**. Florida: Oxford: Commonwealth Forestry Institute, Oxford, 1972 . v. 1/2. (Based on papers submitted to a Symposium organized by IUFRO Working Parties. S2.02.08 and S2.03.01, held in Gainesville).

BURLEY, J.; NIKLES, D. G. Tropical provenance and progeny research and International cooperation. Based on papers submitted to a Symposium organized

by IUFRO Working Parties. S2.02.08 and S2.03.01, held in Nairobi, Kenya in 1973. Commonwealth Forestry Institute, Oxford, UK. 1973b.

BURLEY, J.; STYLES, B. T. (Ed.). **Tropical trees**: variation, breeding and conservation. Oxford: Linnean Society, 1976.

CIAMPI, A. Y.; VINSON, C. C.; GAIOTTO, F. A. Estimativa da diversidade genética em arbóreas nativas tropicais utilizando microssatélites. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 421-440.

CROMER, D. A. N. **Report of consultant mission on conservationm of forest genetic resources in selected countries in Asia**. Roma: FO:Misc./76/27, 1976.

DYSON, W. G. Nota sobre la conservación de especies arboreas in situ. In: FAO. **Informe de la tercera reunión del cuadro de expertos FAO en recursos genéticos forestales**. Roma: FO:FGR/3/Rep. FAO, 1975.

EVANS, J.; TURNBULL, J. **Plantation forestry in the tropics.** 3rd ed. Oxford: University Press, 2004. 467 p.

FAO Collecting wood perennials. In: GUARINO, L.; RAMANATA, R. V.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity**: technical guidelines. Wallingford: CAB International, 1995. p. 485-509.

FAO. **Información sobre recursos genéticos forestales**: documento ocasional forestal. Roma: FAO, 1973-1979.

FAO. **Informe de la cuarta reunión del cuadro de expertos de la FAO en recursos genéticos forestales**. Roma: FO:FGR/4/Rep. FAO, 1977.

FAO. **Informe de la primera reunión del cuadro de expertos de la FAO en recursos genéticos forestales**. Roma: FO:FGR/1/Rep. FAO, 1969.

FAO. **Informe de la segunda reunión del cuadro de expertos de la FAO en recursos genéticos forestales**. Roma: FO:FGR/2/Rep. FAO, 1969.

FAO. **Informe de la tercera reunión del cuadro de expertos de la FAO en recursos genéticos forestales**. Roma: FO:FGR/3/Rep. FAO, 1975b.

FAO. **Porpuestos de un programa Global para el mejor aprovechamiento de recursos genéticos forestales:** información sobre recursos genéticos forestales: n. 4 Documento Ocasional Forestal. 1975/1. Roma: FAO, 1975a.

FRANKEL, O. H. Evaluation and utilization: introductory remarks. In: FRANKEL, O. H.; BENNET, E. **Genetic resources in plants**: their exploration and conservation.Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970 b.

FRANKEL, O. H. Genetic conservation in perspective. In: FRANKEL, O. H.; BENNET, E. (Ed.). **IBP Handbook n. 11**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970a.

FRANKEL, O. H. **Philosophy and strategy of genetic conservation in plants**: tercera consulta mundial sobre el mejoramiento de arboles forestales. FO:FTB/77-1/2.

FRANKEL, O. H; BENNET, E. (Ed.). **Genetic resources in plants their exploration and conservation**: IBP Handbook no. 11. Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications, 1970.

GULDAGER, P. Rodales para la conservación ex situ en los trópicos. In: ROCHE, L. **Metodología de la conservación de los recursos genéticos forestales**. Roma: Misc/75/8. FAO, 1978.

IBPGR. **Report of IBPGR working group on engineering, design an cost aspects of long-term seed storage facilities**: International Board for Plant Genetic Resources. Roma: FAO, 1976.

IUCN. **Categories, objetives and criteria for protected area**: a final report prepared by Committee on Criteria and Nomenclature Commission on National Parks and protected areas. Morges, Switzerland. 1978.

KEIDING, H.; KEMP, R. H. **Exploration, collection and investigation of gene resources**: tropical pines and teak: tercera consulta mundial sobre el mejoramiento de arboles forestales: FO-FTB-77-1/3. Canberra, Australia. 1978.

KEMP, R. H. **Prospección, utilización y conservación de recursos de genes**: tercera consulta mundial sobre el mejoramiento de arboles forestales: FO-FTB-77-1/1, 1978.

KEMP, R. H. **Report of consultant mission on conservation of forest genetic resources in selected countries in Africa**. Roma: FO:Misc/76-26. FAO, 1976.

KEMP, R. H.; WHITMORE, T. C. **International cooperation for the conservation of tropical and sub-tropical forest genetic resources exemplified by south east Asia**. 8th ed. [S.l.]: World Forestry Congress. FQL/26-11, 1978.

KEMP, R. H¸ ROCHE, L.; WILLAN, R. L. Current activities and problems in the exploration and conservation of tropical forest genes resources. In: BURLEY, J.; STYLES, B. T. **Tropical trees**: variation, breeding and conservation. Oxford: Linnean Society, 1976.

LAMPREY, H. E. **The distribution of protected areas in relation to the needs of biotic community conservation in eastern Africa**. Morges, Switzerland: IUCN, 1975. (Occasional paper n. 16.).

LIBBY, W. J.; KRAFTON, D.; FINS, L. Coníferas californianas. In: ROCHE, L. (Ed.). **Metodología de la conservación de los recursos genéticos forestales**. Roma: FO:Misc/75/8. FAO/UNEP, 1978.

MENDES, H. S. J.; PAULA, D. R. de. **Tecnologia em eucalyptus**: técnicas moleculares de transferência de primers. São Paulo: FCAV/Unesp. 2009.

NAMKOONG, G. **Elección de estatégias para el futuro**: tercera consulta mundial sobre el mejoramiento de arboles forestales: FO-FTB-77-6/1. Canberra, Australia, 1978.

NAMKOONG, G. **Introduction to quantitave genetics in forestry**. Washington D.C.: USDA, Forest Service, 1979b. (Technical Bulletin, 1558)

NAMKOONG, G. **Methods of pollen sampling for gene conservation**. In: FRANKLIN, E. C. (Ed.). Pollen Management Handbook. Washington, D. C.: USDA, 1979a. (USDA. Agriculture Handbook No. 587). p.74–76.

NIKLE, D. C.; BURLEY, J.; BARNES, R. D. (Ed.) Progress and problems of genetic improvement of tropical forest trees. In: JOINTED WORKSHOP OF IUFRO WORKING PARTIES S2.02.08 and S2.03.01, Brisbane, Australia, 1977. **Proceedings**... Oxford: Commonwealth Foresty Institute, 1978.

ROCHE, L. (Ed.) **Metodología de la conservación de los recursos genéticos forestales**: informe sobre un estudio piloto. FO/Misc:/75/8.Roma: FAO/UNEP, 1978.

SASTRAPADJA, S. The conservation of forest animal and plant genetic resources. In: WORLD FORESTRY CONGRESS, 8., 1978, Jakarta. FQL/26-0, 1978.

SILVA, J. A.; SALOMÃO, A. N. Coleta e conservação de germoplasma de espécies arbóreas: aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem.), braúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) e gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium* Schott). In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 411-434.

SNEEP, J.; HENDRIKSEN, A. J. T. **Plant breeding prospectives centre for agricultural publishing and documentation.** Wageningen, Netherlands, 1979.

SOULÉ, M. E.; WILCOX, B. A. (Ed.). **Conservation biology**: an evolutionary-ecological perspective. Massachusetts: Sinauer, Sunderland, 1980.

TURNBULL, J. W. **Exploration and conservation of eucalypt gene resources: tercera consulta mundial sobre el mejoramiento de arboles forestales**. FO-FTB-77-1/4. Canberra, Australia, 1978.

WANG, B. S. P. Almacenamiento de semillas y polen de especies forestales para la conservación genética: posibilidades y limitaciones. In: ROCHE, L. (Ed.). **Metodología de la conservación de los recursos genéticos forestales**: FO:Misc./75/8. Roma: FAO/UNEP, 1978.

WHITMORE, T. C. **Conservation review of tropical rainforest**: general consideration in Asia. Morges: IUCN, 1975a.

WHITMORE, T. C. Tropical rain forest of the far east. Oxford University Press, 1975b.

WILLAN, R. L.; PALMBERG, C. Better use of forest genetic resources. In: FAO/DANIDA. **Report on the FAO/DANIDA training course on forest tree Improvement.** Kenya; Roma: FAO/DEN/TF 112. FAO, 1974.

WILLAN, R. L. Forestry: improving the use of genetic resources. **Span**, v. 16, n. 3, p. 119-122, 1973.

14

Recursos Genéticos de Plantas Ornamentais no Brasil: desenvolvimento incipiente para um país tão promissor

Luciano de Bem Bianchetti
Zenilton de Jesus Gayoso Miranda

Introdução

Desde os primórdios das civilizações, a percepção do belo na natureza e a intenção de "trazer" esta natureza para próximo do homem fizeram-se notar pelo cultivo de plantas ornamentais. Os Jardins Suspensos da Babilônia, datados do século 4 a.C. e considerados como uma das sete maravilhas do mundo, representam um clássico exemplo dessa prática.

A partir do século 15, época das grandes navegações, mercadores europeus perceberam a oportunidade de ampliar as opções voltadas para alimentação, vestimenta e outros e passaram a introduzir espécies de animais e vegetais de outras localidades. Quanto aos vegetais, durante a primeira parte do século 18, cerca de 5 mil espécies (ornamentais, frutíferas ou condimentares) foram introduzidas na Europa, sendo o final do século 18 e início do século 19 o apogeu da "era botânica", quando plantas das Américas, da Índia, África e Austrália foram coletadas e mantidas sob cultivo. Ou seja, plantas até então com distribuição e uso restrito passaram a ser amplamente difundidas e exploradas.

Com a intenção de melhor explorar a flora nativa bem como o potencial das plantas introduzidas, na Europa, ou principalmente nos países do Velho Mundo, desenvolveu-se a tradição hortícola consubstanciada por técnicas de enxertia, seleção de sementes, substratos apropriados, formas e tipo de recipientes, tipos de podas, estufas, etc. Como resultado dessa "cultura" hortícola, o produto "plantas ornamentais" foi, com o passar dos tempos, elevado ao patamar de agronegócio e, hoje, muitos países visualizam a produção e comercialização dessas plantas como principal fonte de divisas.

Apesar de encontrarem-se todos os requisitos para o desenvolvimento de uma floricultura diversificada no Brasil – por sua extensão geográfica, pela amplitude de clima, solo e pela flora extremamente variada – isso não se verifica. Este trabalho tem por objetivo apontar alternativas e discutir algumas causas que impedem o pleno desenvolvimento dessa atividade no nosso país. Os temas a serem discutidos são: conceitos pertinentes e diversificação de uso, diversidade de plantas ornamentais, mercado e perfil do produtor, pesquisa e disponibilidade de germoplasma (incluindo coleta, introdução e conservação).

Conceitos Pertinentes e Diversificação de Uso

O termo "planta ornamental" é um conceito do domínio da Horticultura que se aplica, basicamente, ao aproveitamento de uma determinada espécie ou conjunto de espécie para fins de exploração comercial, quer seja para paisagismo de grande ou pequena escala, quer seja para decoração de interiores. Em linhas gerais, pode-se afirmar que planta ornamental é toda planta cultivada por sua beleza.

Podemos dizer que um recurso é um bem material, e um bem material é tudo aquilo do qual se pode extrair algum tipo de benefício, proveito ou utilidade. Portanto, de uma maneira muito simplificada, um recurso genético vegetal pode ser entendido como qualquer planta, ou parte

dela, da qual o homem faz uso ou tira algum tipo de proveito. Então, podemos observar diferentes conjuntos de recursos genéticos, geralmente agrupados pelo tipo de uso, entre eles: recursos genéticos de plantas alimentícias, madeireiras, medicinais, fibrosas, oleaginosas etc. Nesse contexto, os recursos genéticos de plantas ornamentais formariam um novo conjunto, pois, de uma forma generalizada, aplica-se o conceito a uma determinada espécie ou conjunto de espécies com potencial ou inegável valor ornamental para fins de exploração comercial.

O termo "ornamental" confere ao conceito um componente que às vezes pode ser compreendido como de uso necessariamente decorativo, no entanto as plantas ornamentais têm várias aplicações que não somente àquelas relacionadas à composição cênica de ambientes construídos. Essas aplicações têm sido gradativamente estudadas na perspectiva de utilizações mais funcionais desses vegetais. Para Angelis Neto e Angelis (1999), no contexto da utilização das plantas ornamentais, deve-se "à arte do belo, à estética e à forma, agregar-se o aspecto funcional, a simbiose entre objetivo e objeto, em que o foco vem a ser a melhoria da qualidade da vida da população". De igual modo, Bañeras (1999) argumenta que, em paisagismo, há fortes tendências que apontam uma crescente preocupação na "elaboração de projetos ecologicamente corretos, ou de forte conceito ecológico". Segundo o autor, "na Alemanha, por exemplo, as leis municipais de muitas cidades não permitem que sejam utilizadas em projetos públicos plantas que não sejam nativas".

Essa preocupação deriva da perspectiva de utilização "não só das plantas mais adequadas a cada região", mas, ao fazê-lo, "estarmos, também, adotando espécies com menor impacto ambiental, que consomem menos água, mais bem adaptadas a estes ou aqueles tipos de solo, mais resistentes às pragas e doenças da região e mais bem inseridas na paisagem." (BAÑERAS, 1999).

Além das diferentes abordagens relacionadas ao uso, podemos enumerar outros benefícios associados à prática da floricultura, como aque-

les evidenciados por Saturnino (1979), em que se destaca, entre outros, a sua importância social:

> "A floricultura apresenta-se como a forma mais adiantada da evolução agrícola, pois exige alta tecnologia, um sistema eficiente e rápido de distribuição de comercialização. Apresenta alta rentabilidade por área, exige grande quantidade de mão de obra e, portanto, gera empregos. Permite o emprego de mulheres e adolescentes, tornando-se uma ocupação familiar. Pode ser rendosa mesmo em pequenas propriedades. Apresenta-se, portanto, como uma opção de fixação de mão de obra no meio rural e de aproveitamento dos minifúndios, considerados impróprios para outras atividades agropecuárias".

Diversidade das Plantas Ornamentais

Os dados que buscam apresentar, em um panorama amplo, a biodiversidade brasileira ou mundial estão sujeitos a muitas incertezas, visto que não há consenso entre as diversas fontes. No entanto, esses dados auxiliam no entendimento do quanto complexo e heterogêneo é o universo das plantas e mais especificamente das plantas ornamentais. No presente caso, não buscamos fazer um estudo exaustivamente detalhado sobe a diversidade de plantas ornamentais existentes no país, mas trazer uma reflexão sobre o potencial de uso e os fatores que facilitam ou restringem a conservação desse recurso natural. Na Tabela 1, demonstra-se a quantidade de espécies vegetais existentes no Brasil e no mundo.

É fato que as plantas ornamentais podem ser representadas em qualquer dos grupos taxonômicos citados acima. No entanto, é necessário que estudos sejam desenvolvidos para se estimar um percentual daquelas que possuem potencial ornamental visando à utilização como incremento para o agronegócio de flores e plantas ornamentais.

Tabela 1. Estimativa de número de espécies no Brasil e no mundo.

Grupo	Brasil	Mundo
Angiospermas	44.000 a 50.000	± 250.000
Gimnospermas	14 a 16	806
Pteridófitas	1.200 a 1.400	9.000 a 12.000
Briófitas	3.125	14.000

* Números baseados em Shepherd (2005).

Considerando o interesse deste capítulo, o grupo das monocotiledôneas é bastante relevante por se tratar, em sua maioria, de plantas herbáceas e por serem citadas extensivamente na literatura como plantas utilizadas para fins ornamentais. Nesse contexto, Giulietti (2005) lista as famílias de monocotiledôneas com maior número de espécies no Brasil, registra o número total de espécies (Figura 1) e fornece a representatividade em relação à flora mundial (Figura 2) para as seguintes famílias, em ordem decrescente: Poaceae, com 10.000 espécies ou 13,68% da flora mundial de gramíneas; Orchidaceae, 2.650 espécies ou 12,05% da flora mundial de orquídeas; Araceae, 700 espécies ou 21,21% da flora mundial da família; Bromeliaceae, 650 espécies ou 29,29% da flora mundial de bromélias; Eriocaulaceae, 548 espécies ou 45,67% da flora mundial de eriocaulos, pepalantos e afins; Velloziaceae, 235 espécies ou 85,14% da flora mundial de canelas-de-ema; Arecaceae, 195 espécies ou 6,50% da flora mundial de palmeiras; Xyridaceae,140 espécies ou 46,67% da flora mundial da família; Dioscoreaceae, 128 espécies ou 19,69% da flora mundial da família; e Marantaceae, 120 espécies ou 30% da flora mundial da família.

Orchidaceae é uma família cosmopolita, amplamente distribuída em todas as regiões do globo, salvo nos extremos polares, e é tradicionalmente utilizada como ornamental. Bromeliaceae é uma família de distri-

buição notadamente neotropical e, de igual modo, utilizada tradicionalmente como ornamental. Poaceae é um grupo cosmopolita e megadiverso, representado por plantas geralmente herbáceas, salvo os bambus, que predominam nas savanas, como é o caso do Cerrado brasileiro. Eriocaulacea e Velloziaceae são famílias bem representadas nos campos rupestres do Brasil Central, cujas taxas de endemismo são bastante elevadas (GIULIETTI, 2005.). A primeira é extensivamente coletada para a confecção de arranjos de flores secas. A segunda possui um grande potencial ornamental ainda pouco explorado por falta de estudos de viabilidade agronômica mais aprofundados.

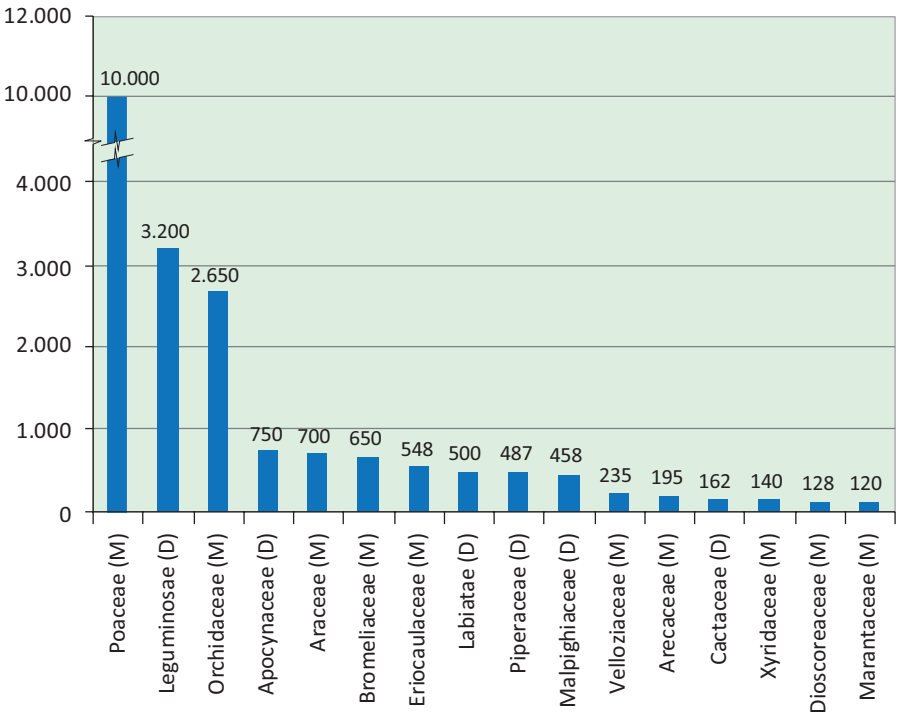


Figura 1. Quantidade de espécies de algumas famílias de mono (M) e dicotiledôneas (D) da flora brasileira reconhecidas por seu valor ornamental.

Fonte: dados extraídos de Giulietti (2005).

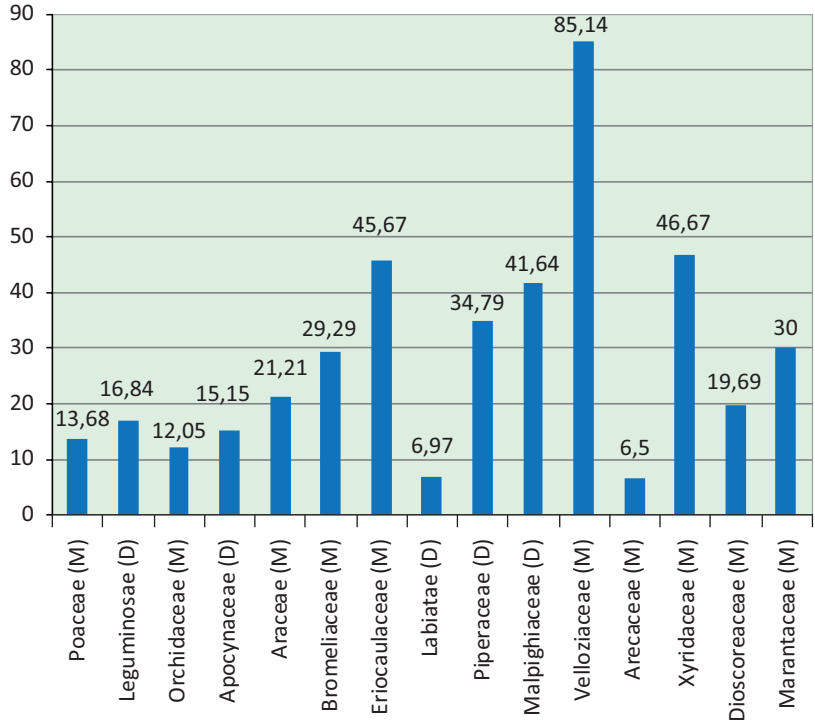


Figura 2. Porcentagem em relação à flora mundial de famílias de mono (M) e dicotiledôneas (D) da flora brasileira reconhecidas por seu valor ornamental e representatividade.

Fonte: dados extraídos de Giulietti (2005).

Considerando o número de espécies no Brasil e a representatividade em relação à flora mundial, algumas famílias se destacam por terem, no País, seu centro de diversidade e de dispersão. Outras se destacam por apresentar alto grau de endemismo no território brasileiro (Tabela 2). Segundo Giulietti (2005), 97,87% das espécies da família Velloziaceae que ocorrem no território nacional são endêmicas. Vale ressaltar que a família sofre, em alguns estados brasileiros, grande pressão do extrativismo, o que resulta, na maioria dos casos, na morte das plantas. Níveis de endemismo semelhantes ao dessa família podem ser observados em famílias extensivamente exploradas para fins ornamentais como é caso

das Eriocaulaceae, cujo percentual de endemismo para a flora brasileira alcança 96,35%; também em relação a essa família se observa uma prática extensiva de coleta extrativista sem plano de manejo adequado, o que resulta na diminuição das populações das espécies, as quais são, em muitos casos, pouco conhecidas pela ciência.

Tabela 2. Número de espécies endêmicas e percentuais de endemismo no País de famílias extensivamente utilizadas ou com potencial ornamental conforme Giulietti (2005).

Família	Nº espécie endêmica	% de endemismo no Brasil para a família
Apocynaceae	500	66,67
Bromeliaceae	419	64,46
Cactaceae	123	75,92
Eriocaulaceae	528	96,35
Heliconiaceae	6	16,22
Iridaceae	68	65,38
Leguminosae	2.144	67
Malpighiaceae	300	65,50
Marantaceae	99	82,50
Orchidaceae	1.800	67,92
Piperaceae	405	83,16
Velloziaceae[(1)]	230	97,87
Xyridaceae	100	71,43
Zingiberaceae	9	81,82
Total	6.731	

[(1)] Incluída pelo grande potencial ornamental.

As famílias Eriocaulaceae e Xyridaceae são exaustivamente exploradas para confecção de arranjos florais de flores secas, não havendo, na maioria dos casos, planos de manejo adequados para a exploração das espécies dessas famílias. A família Velloziaceae sofre, possivelmente, níveis menores de pressão de coleta em suas populações, no entanto grande

parte das espécies ocorre no domínio do Cerrado brasileiro e está sujeita aos efeitos ecológicos do avanço da fronteira agrícola na região. Segundo Egler et al. (2006), o Brasil é um território megadiverso, abrigando cerca de 15% a 20% de toda a diversidade biológica mundial, o que confere ao nosso país uma extraordinária competitividade diante de demandas ambientais e biotecnológicas, nas quais o capital natural pode gerar grandes benefícios econômicos e sociais quando bem administrado.

O Mercado e o Perfil do Produtor Brasileiro

Ao findar do século 20, acentuadamente a partir das suas duas últimas décadas, as economias representadas pelos países em desenvolvimento, impulsionadas pela globalização do capital internacional, experimentaram grandes mudanças estruturais. No País, esse cenário ficou bem marcado pela participação do setor agrícola que, a exemplos de outros momentos históricos, participou como fator de estabilização das divisas. Nesse contexto, Sá (2004) assegura que:

> "Entre os seguimentos do setor agrícola, com possibilidades de cumprir este ideário econômico e promover uma rápida inclusão das massas de trabalhadores ao mercado, cujos postos de trabalho foram volatilizados com a justificativa de uma maior produtividade, destacam-se os segmentos da produção de frutas e da produção de flores e plantas ornamentais".

Para o desenvolvimento do setor, Sá (2004) cita que, na esfera governamental, foram criados planos e programas de incentivo à expansão do setor.

Entre as iniciativas da sociedade civil organizada, esse autor destaca a criação do Instituto Brasileiro de Floricultura (Ibraflor) composta pelos diversos segmentos da floricultura (ensino, pesquisa, extensão, produção, atacado, varejo e paisagismo).

Apesar de seu grande potencial para conquistar uma posição destacada no cenário interno e externo, o mercado de flores e plantas ornamentais, segundo Perosa (2002), é de pouca expressão nas exportações brasileiras. Na Figura 3, demonstra-se o saldo do comércio exterior no período de 1992 a 2002.

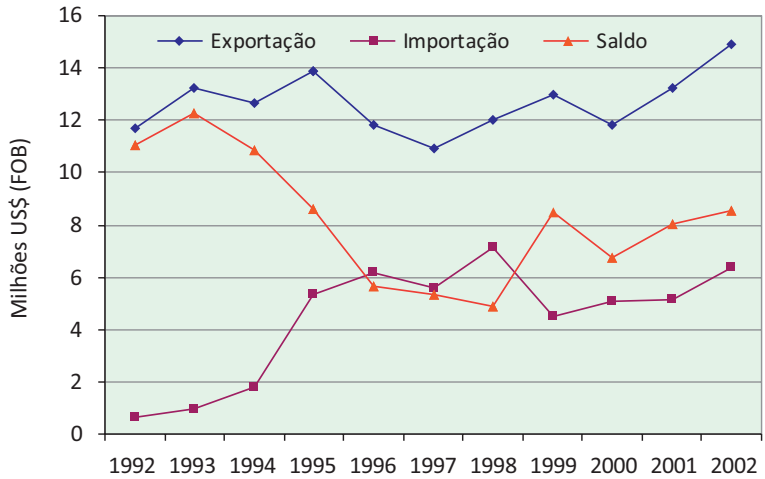


Figura 3. Saldo comercial do comércio exterior brasileiro de plantas vivas e produtos de floricultura, em US$ FOB, de 1992 a 2002.

Fonte: dados extraídos de Perosa (2002).

Os dados analisados pelo autor indicam que a evolução da participação brasileira apresenta comportamentos diferenciados para os diversos produtos exportados. Demonstram que o país, no período considerado (1992 a 2002), apresentou evolução negativa do saldo comercial no setor. Enquanto a taxa de crescimento das exportações alcançou 3,9% ao ano, as importações revelaram um comportamento crescente de 21% ao ano, comportamento que, para o autor, poderá representar perda de competitividade desse mercado. Segundo Perosa (2002), os três principais países de destino das exportações brasileiras de plantas vivas e produtos de floricultura são Países baixos (Holanda e outros, 50,47 %), Itália (12,70%) e Alemanha (10,03%). Na América Latina, o principal mercado consumidor do país é a Argentina (4,40%). Levando em consideração a

diversidade de plantas nativas da flora brasileira com potencial para uso ornamental, a diversidade climática e o possível incremento que o uso sustentável desse recurso poderá significar para o mercado tanto interno como externo, parece-nos óbvio que esse potencial deveria ser mais bem explorado. Segundo Claro et al. (2001):

> "O agregado da produção de flores deve explorar as vantagens comparativas (e.g. diversidade de clima e solos) ante outros complexos agroindustriais, tanto nacionais quanto internacionais. Com isso, esse agregado deve desenvolver o cultivo, visando à exportação de espécies como orquídeas, bromélias e flores de cerrado, com potencial comercial pouco explorado."

Tomando um caso particular nesse contexto, consideremos o caso da família Orchidaceae, cuja diversidade brasileira, conforme comentado acima, gira em torno de 2.650 espécies, cerca de 12,05% da flora mundial de orquídeas. Considerando que a exportação de mudas de orquídeas para os Estados Unidos da América no período de 2000 a 2002, conforme Junqueira e Peetz (2002), somou 0,78% (ou US$ FOB 25.534 mil) do total das exportações (RS$ FOB 3.270.410 milhões) do grupo de plantas do qual excluem-se árvores, arbustos e silvados de frutos comestíveis, mudas de cana-de-açúcar e de videira (base de dados ALICE - SECEX), e que o total de exportações de mudas de orquídeas para os outros dois principais países (Holanda e Itália) para onde o Brasil exporta flores e plantas ornamentais foi nulo, pode-se ter uma breve noção do quão pequena é a participação brasileira no mercado de plantas e flores ornamentais, a despeito de sua biodiversidade. Apesar de os números apresentados por Junqueira e Peetz (2002) não explicitarem quantas espécies nativas da flora brasileira de orquídeas estão envolvidas nas exportações do período considerado, esse exemplo parece deixar óbvio que ações devem ser tomadas para gerar iniciativas tanto para a promoção de um uso mais efetivo de nossa diversidade de plantas com potencial ornamental quanto para promover programas de incentivo à produção e exportação de produtos da flora, que privilegiem a biodiversidade brasileira e aproveitem melhor a diversidade de clima e solos existentes no País.

Segundo Stringheta et al. (2002), as cifras nesse segmento, conforme estimativas internacionais, alcançaram em 2000, para o produtor, cerca de 19 bilhões de dólares; já no varejo, esses números alcançaram cerca de 50 bilhões de dólares. O Brasil representa, conforme argumenta, cerca de 0,2% do mercado externo. Para Sá (2004), no período de 1995/1996, o país exportava menos de 1% do comércio internacional desse produto; quase uma década depois, a participação no mercado internacional era de US$ 11.781.769, em 2000; e alcançou um total de US$ 14.909.509, em 2002. Ainda assim, argumenta o autor, esses números representam cerca de 1,5% das exportações da Holanda, o referencial mundial para o setor. Independente desse contexto, é quase consenso, na literatura corrente, que o país possui um grande potencial de crescimento; no entanto, para consolidar esse cenário, Stringheta et al. (2002) ponderam que:

> "Embora de um modo geral bem estruturada, a floricultura nacional apresenta deficiências que entravam seu pleno desenvolvimento, e que foram agravadas pelo aumento de sua escala de produção. A não ser por algumas de suas áreas tradicionais, este setor registra uma série de problemas organizacionais como perdas de colheita e pós-colheita, embalagem, transporte e baixo índice de cooperativismo. Na superação desses entraves, tem havido um esforço do governo no desenvolvimento de programas específicos de apoio ao setor, buscando disponibilizar fundos para o investimento em infraestrutura e apoio ao produtor. Além do apoio oficial, a participação do setor privado torna-se fundamental para que a cadeia produtiva do agronegócio das flores e plantas ornamentais possa, finalmente, se consolidar, realizando avanços concretos no sentido de desenvolver toda a sua potencialidade".

É fato que a floricultura nacional é resultado de uma larga tradição de agricultores familiares oriundos da migração asiática e europeia, o que repercute no empresariado do setor, também composto por empresas de base familiar.

Informações sistematizadas por Sá (2004), a partir do senso agropecuário do período de 1995 a 1996, demonstraram que as unidades produtivas que possuíam a floricultura como atividade principal representavam 0,07% da área e do total de estabelecimentos investigados e, em termos de receita, contribuíram com um percentual de apenas 0,43% do total gerado pela agropecuária do país; no entanto, a receita média declarada para o setor foi 5,43 vezes maior, se comparada à receita média informada por todos os demais setores abrangidos pelo senso agropecuário. Para o autor, esse fato deriva da própria natureza do produto cultivado (de valor agregado alto) e da forma de organização da produção, cujo diferencial reside na exigência de um elevado nível de incorporação tecnológica e orientação voltada exclusivamente para o mercado. O autor argumenta que, no período considerado, a floricultura brasileira era composta, predominantemente, por pequenas empresas de base familiar, empregando um significativo contingente de trabalhadores, geralmente qualificados, devido às especificidades do setor.

Segundo Castro (2002), o cultivo de plantas ornamentais é explorado em pequenas propriedades. O tamanho médio dessas propriedades nos estados de São Paulo e Santa Catarina, grandes pólos produtores, chega a 3 ha. No entanto, o autor cita que existem, em algumas regiões, empreendimentos rentáveis de flores e plantas ornamentais em áreas com cerca de 500 m^2. No Brasil, em uma área plantada, em torno de 5.200 ha (70,5% campo, 26,3% estufas e 3,3% telado, cf. KIYUMA, 2004), 300 ha estão voltados para a exportação (JUNQUEIRA; PEETZ, 2002.) e apenas 166 ha voltados para a produção de flores tropicais, ou seja, aquelas espécies que estariam mais próximas de nossa flora autóctone. No tocante ao plantio de flores tropicais, Pernambuco é o estado brasileiro com maior área plantada de flores tropicais, com cerca de 62 ha plantados; seguido de Alagoas (32 ha) e da Bahia (20 ha).

Esses números demonstram que o agronegócio de flores e plantas ornamentais no País tem grandes possibilidades de expansão, poden-

do, inclusive, converter-se em uma boa alternativa para a agricultura de base familiar, apesar da alta demanda por tecnologia especializada para alguns cultivos. Segundo Kiyuma (2004), a despeito da grandeza territorial do País e da diversidade de climas e solos – aspectos que poderiam ser utilizados como diferencial competitivo pelo setor –, há uma grande assimetria entre os municípios brasileiros em termos de concentração da produção. Levando em consideração o período de 1995 a 1996, o autor demonstra que 20% dos municípios mais importantes do setor no país concentram 95% do valor gerado.

Estabelecendo políticas de regionalização da produção de flores e plantas ornamentais para aproveitamento de floras locais (incluindo nessa iniciativa um selo verde para a produção de base familiar sustentável), obviamente seguindo um plano de uso sustentável, o País poderia obter diferencial competitivo de mercado tendo por base a crescente exigência de mercados internacionais por iniciativas de desenvolvimento econômico que promovam a inclusão social.

A área plantada de flores e plantas ornamentais tem apresentado certa expansão no País. Esse contexto pode ser observado não só nos pólos tradicionais de produção (São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro), como argumenta Sá (op. cit.), mas, sobretudo, no Nordeste brasileiro, notadamente nos estados de Pernambuco e Ceará, áreas situadas no semiárido, mas que possuem clima tropical. Essa expansão só será viável para o mercado brasileiro se for criada infraestrutura e incorporados novos produtos para incremento do setor.

Segundo Castro (1998):

> "Apesar da grande evolução dos últimos anos, existe uma necessidade crescente de oferta de novas espécies e, portanto, um imenso espaço para a entrada de novas empresas produtoras de sementes e mudas desde que estas ofereçam diversidade de espécies e variedades, bem como apoio e orientação técnica sobre o planejamento da produção".

Nesse sentido, existe um grande ponto de convergência entre as necessidades do mercado em utilizar a biodiversidade para diversificar a carteira de produtos a serem oferecidos e a disponibilidade do germoplasma de interesse.

Disponibilidade e Utilização de Variabilidade Genética em Plantas Ornamentais

Considerando que a agricultura engloba uma gama de produtos, faremos uma breve introdução sobre domesticação, erosão genética e utilização de recursos genéticos, exemplificando com plantas ornamentais, foco de nossa atenção, visando ilustrar os processos agora discutidos.

Uma das maiores revoluções humanas ocorreu com a domesticação de plantas e animais. Assim, iniciou-se a agricultura, há cerca de 10 mil anos. Nesse processo, apenas uma parte do conjunto gênico original de uma determinada população é escolhida, e essa fração ainda passa por severa pressão de seleção humana. Por consequência, as plantas domesticadas apresentam uma base genética extremamente reduzida. No entanto, o homem, pela observação do processo natural de mutações, por recombinações produzidas e por cuidadosa seleção, também é capaz de "promover" uma série de eventos que resultam em estados genéticos e morfológicos diferentes. Esses eventos podem ser: cruzamentos intraespecíficos, propagação clonal, hibridação interespecífica, isolamento geográfico (transporte), resultando, como consequência, em poliploidia, mudanças associadas à domesticação, variedades produzidas sob cultivo provenientes de isolamento geográfico e produção de raças locais. Dessa maneira, através de séculos, os pequenos agricultores desenvolveram espantosa variabilidade nas culturas por meio de seleção de genótipos adaptados às condições ecológicas locais (adaptação a diferentes climas, solos, patógenos, etc) ou simplesmente por seleção baseada em padrões culturais que variam de localidade para localidade fundamentados em diferentes valores estéticos (coloração, tamanho, formas, etc) e usos (alimentares, medicinais, religiosos, etc).

Ademais, a agricultura moderna é dependente de uma pequena parcela do reino vegetal, da qual se exige a máxima eficiência produtiva para suprir a crescente demanda de alimento. Nesse sentido, a história da agricultura é uma história reducionista refletida no número de espécies vegetais utilizadas. De fato, os povos pré-históricos encontravam alimento em cerca de 1.500 espécies de plantas. Pelo menos 500 dessas foram utilizadas na agricultura antiga. No espaço de 1.000 anos, a diversidade de alimentos vegetais reduziu-se para 200 espécies cultivadas por pequenos agricultores e 80 espécies preferidas pelos produtores. Hoje, entre 15 e 20 espécies são intensivamente utilizadas para alimentação, sendo apenas três (trigo, arroz e milho) responsáveis por 75% de toda a energia consumida pela população mundial. Evidentemente por razões econômicas, a grande diversidade de alimentos, antes utilizada, vem sendo eliminada em detrimento de uma maior produtividade apresentada por poucos genótipos. A perda ou substituição de inúmeras variedades e raças locais por pouquíssimas variedades melhoradas caracteriza um dos processos mais nocivos para o futuro da agricultura – a erosão genética –, ou seja, a perda de genes, entre aqueles potencialmente úteis para futuros programas de melhoramento genético. Do mesmo modo que a agricultura voltada para alimentação dependente de uma pequena parcela do reino vegetal, da qual se exige a máxima eficiência produtiva, os recursos genéticos das plantas ornamentais também se constituem em pequena parcela de um enorme universo. Heywood (2003), considerando apenas dois segmentos desse universo**,** aponta que cerca de 200 espécies são intensivamente utilizadas na produção comercial de flores e cerca de 500 como plantas de interior.

De forma geral, em um processo de domesticação ou de melhoramento genético, buscam-se, sempre, características que deverão ser incorporadas a um determinado indivíduo ou mesmo a uma cultura, que estarão aptos, quando os atributos desejáveis são reunidos num grau adequado. Por esse motivo, plantas domesticadas são submetidas à rigorosa pressão de seleção envolvendo, entre outros, a supressão de mecanismos de defesa, a redução da fertilidade sexual (propagação vegetativa)

e as mudanças de hábito, incluindo plantas de comportamento perene para anual (FORD-LLOYD; JACKSON, 1986). Verifica-se, assim, que, por meio da seleção realizada pelo homem, os esforços concentraram-se em poucas espécies – e poucos genótipos –, que passaram, cada vez mais, a ser eficientes e adaptadas às mais variadas necessidades humanas. A consequência desse processo reducionista é a eliminação da variabilidade até o ponto em que a base genética de uma espécie seja tão estreita que ela se torne altamente vulnerável. A adaptação adequada a mudanças no ambiente, a novos patógenos e a pragas torna-se improvável.

A melhor maneira para a reversão desse quadro é a utilização da variabilidade genética contida em outros genótipos da mesma espécie, ou seja, aqueles genótipos que resultaram em estados genéticos e morfológicos diferentes, promovidos por seleção humana bem como em espécies afins, sejam cultivadas ou silvestres, autóctones ou exóticas. No caso de plantas silvestres, o complexo gênico original ainda se mantém íntegro (ou quase isso para o caso de plantas cultivadas que não sofreram seleção intensiva), logo se portam como fontes potenciais de genes úteis ou como "depósitos" de genes que normalmente são perdidos nos processos de melhoramento. Entretanto, a identificação de variabilidade desejada não necessariamente implica em sua disponibilidade e, para tanto, são necessárias atividades complementares de coleta, introdução, caracterização, avaliação, documentação e conservação do germoplasma pretendido.

Coleta e Introdução

De modo muito generalizado, quando uma pessoa ou instituição resolve promover a utilização de um recurso fitogenético e caso haja indisponibilidade de germoplasma, o planejamento deve, obrigatoriamente, contemplar inicialmente atividades de coleta (especialmente para plantas autóctones e/ou para genótipos introduzidos e aclimatados, sejam obsoletos ou não) ou introdução (para genótipos exóticos), visando ampliar a variabilidade genética disponível que deverá ser utilizada. Em outras

palavras, devemos reunir "matéria-prima" suficiente de tal maneira que esse estoque apresente opções que possam atender as demandas geradas pelos interessados.

Desde tempos remotos, a humanidade depende da coleta de germoplasma visando ao atendimento de diferentes demandas das civilizações. Do mesmo modo, atividades de introdução e intercâmbio também foram e são decisivas, principalmente quando vistas como instrumentos para ampliar as opções geradas por necessidades básicas como alimentação, por exemplo. Mesmo tratando-se de atividades extremamente importantes e antigas, a literatura deixa a desejar quanto aos registros estabelecidos.

No Brasil, a ideia de importação de plantas exóticas, em detrimento à utilização de espécies autóctones, para usos diversos, data do descobrimento do país e, em muitos casos, concessa prática é apontada como barreira para o desenvolvimento da floricultura no Brasil (SATURNINO, 1979). Ao contrário do que poderíamos inicialmente conjeturar sobre a conscientização e a importância da conservação da flora nativa e, por consequência, a fundação de Jardins Botânicos ou a criação de "Unidades de Conservação", Blossfeld (1983) relata-nos que a fundação do Horto Real (hoje o Jardim Botânico do Rio de Janeiro) teve o propósito inicial de uma plantação de árvores exóticas para a produção de carvão destinado ao fabrico de pólvora. Após essa providência indispensável para a defesa, D. João VI complementou o decreto da fundação acrescentando uma segunda tarefa: o jardim de aclimatação para árvores exóticas de interesse comercial e industrial, a fim de garantir a produção de materiais exportáveis de comprovado êxito em Portugal. Desse modo, ordenou-se a introdução de mudas de especiarias (caneleira-do-Ceilão, canforeira e o craveiro-da-Índia); de ervas que serviam para o beneficiamento do chá (que também é exótico) (falsa-murta, gardênia, angélica, jasmim e magnólia amarela); de árvores e arbustos produtores de fibras, visando o fabrico de chapéis e cadeiras (Bombonossa – *Cardulovica palmata* e Rotang

– *Calamus rotang*) e de plantas ornamentais, para atender a aristocracia (espécies de acalifa, cassia, brownea, croton, datura rosea, dombeia, piteira, ixora, plumeria, poisettia, flamboiant, ravenala, agapanthus, angélica, balsamina, copo-de-leite, dália, dracenas, hibiscus, jasmim, lírios, margaridas, cravos e roseiras).

Segundo Giacometti (1988) "A introdução constitui-se na transferência ordenada e sistemática de germoplasma para um novo local a fim de atender as necessidades do melhoramento genético e pesquisa correlata". Walter et al. (2005b) apontam que introdução pode ser entendida, em sentido amplo, como a transferência de germoplasma entre países e, em escala menor, entre regiões fitogeográficas de um país. Em muitos casos, as justificativas para o desenvolvimento de atividades de introdução e coleta são similares e correlatas. Desse modo, Engels et al. (1995) enumeram quatro razões principais para que se efetue a coleta de germoplasma e, como já foi comentado, usaremos as mesmas razões para que também se proceda à introdução:

a. O germoplasma está em perigo de erosão genética ou mesmo de extinção.

b. A demanda pelo germoplasma é claramente expressa por usuários em âmbito nacional ou internacional.

c. A diversidade que o germoplasma representa está sendo perdida ou é insuficientemente representada nas coleções ex situ de germoplasma.

d. O conhecimento sobre o germoplasma deve ser ampliado.

Assim, tanto para a coleta quanto para a introdução de plantas ornamentais, no Brasil existem dois setores atuantes: o informal (geralmente privado) e o formal (oficial e público). O setor informal, formado por agricultores e (ou) viveiristas, tem como objetivo da coleta e da introdução o uso imediato do germoplasma para o plantio e multiplicação com

posterior comercialização. Como as informações pertinentes aos itens (a), (c) e (d), já mencionados, são escassas ou pulverizadas, o setor informal assume a iniciativa de demandar diretamente aos produtores, nacionais ou internacionais, o germoplasma pretendido e, em muitos casos, sem que haja fiscalização ou acompanhamento do processo. Entretanto, esse é um procedimento de risco, pois, caso não haja fiscalização, inadvertidamente pode-se introduzir, e já foram introduzidos, patógenos novos em determinadas áreas ou região ou mesmo plantas invasoras que não ocorriam no novo hábitat. Nesse contexto, Coutinho (2001) exemplifica sobre os problemas de introdução de doenças no País por meio da aquisição de plantas ornamentais exóticas; Dias et al. (2002) apresentam o risco de introdução de pragas invasoras exóticas na importação de flores frescas. De modo similar, Almeida (2007) e Rivas (2007) discorrem sobre a detecção e controle de bactérias e vírus em plantas ornamentais e alertam os produtores sobre os prejuízos, limitações e impedimentos para exportação impostos por esses microrganismos.

No caso do setor formal, geralmente formado por pesquisadores e pertencentes a instituições de pesquisa, o objetivo da coleta e da introdução é atender as necessidades do melhoramento genético e da pesquisa correlata, em curto, médio e longo prazos. Para tanto, instituições públicas e órgãos oficiais como o Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e o Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia, da Embrapa, executam e fiscalizam as atividades de introdução, de acordo com a legislação brasileira e internacional de proteção fitossanitária, daqueles materiais destinados à pesquisa. Outros órgãos, como o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), vinculado ao Ministério do Meio Ambiente, atualmente regulam as atividades de coleta e acesso aos recursos genéticos.

No Brasil, há muitos trabalhos que tratam da coleta de material de herbário, mas sobre coleta de material vivo (germoplasma), a literatura formal é curiosamente escassa (WALTER et al., 2005a). Porém, especificamente sobre a coleta de germoplasma de plantas ornamentais, pratica-

mente não existe nada. Exceções devem ser consideradas para os relatos esporádicos de viagens botânicas em que são exaltadas as "novidades" com grande ênfase para o registro da biodiversidade local – materializado por meio de listas de espécies observadas e descrições de espécies novas para a ciência – e, em escala também importante, porém com menor intensidade, para a utilização ou conservação do germoplasma coletado, como, por exemplo, os relatórios de excursões botânicas realizadas por F.C. Hoehne e publicados pela Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo, sob várias datas. Digno de nota é o trabalho realizado por Tombolato et al. (1991), em que são apresentadas justificativas, metodologias e roteiros de viagens para coleta de germoplasma de espécies de *Alstroemeria*, com ênfase para conservação e utilização em programas de melhoramento genético. Outro exemplo é o trabalho de Assis e Sakuragui (2005), em que são abordados temas sobre a coleta e conservação de germoplasma de plantas ornamentais, com ênfase em Altroemeriaceae e Araceae.

Como enfatizamos no início, quando a atividade de coleta de germoplasma contempla especialmente recursos genéticos autóctones, a formação dos nossos estoques é mais exequível, por questões de soberania; segura, não há introdução de novos patógenos no país; e barata, devido à proximidade e adaptações aos estresses abióticos, pois a maior parte da variabilidade genética, se não toda, foi gerada e está distribuída no País. Entretanto, a ausência de representantes nativos ou de variabilidade genética disponível para determinados produtos, induz-nos à necessidade de realizar introduções para o atendimento de demandas imediatas do setor e à formação dos estoques para pesquisa. Esse procedimento gera dependência de germoplasma exótico, o que limita nossos estoques; exige um cuidado fitossanitário cada vez maior, pela segurança biológica; e custará cada vez mais caro devido às barreiras protecionistas, pois há tendência nesse sentido imposta pela legislação internacional.

Extraímos de Gatti (2004) dois exemplos que ilustram bem a resenha, agora discutida: (a) a importação (ou preferência) de plantas exóti-

cas em detrimento das plantas autóctones e (b) as consequências comerciais dos trabalhos efetuados com base em estoques limitados ou com variabilidade genética limitada.

A importação de plantas exóticas em detrimento das plantas autóctones

O Brasil é detentor de uma grande diversidade de gêneros e de espécies autóctones de orquídeas. Esse fato, aliado às formas, cores, raridades, especificidades reprodutivas e de cultivo, estimularam a curiosidade por parte da sociedade, que passou a valorizá-las e colecioná-las. Gatti (2004) comenta que o hábito de cultivar e colecionar orquídeas foram fortemente estimulados pela fundação e expansão das associações de orquidófilos, a partir da década de 1940. Hoje, os orquidicultores constituem-se em uma das parcelas mais bem organizadas no setor de produção e comercialização de plantas ornamentais. Comenta ainda que, até a década de 1990, esses produtores conseguiram manter o comércio interno e externo abastecido com mudas e flores de orquídeas provenientes de clones ou de seleção a partir de espécies autóctones, especialmente híbridos e variedades de *Cattleya labiata* e de *Laelia purpurata*. Depois de 1990, o perfil de produção vem se alterando bastante com a crescente produção e oferta de espécies e híbridos de *Dendrobium*, *Cymbidium* e *Phalaenopsis*, todas exóticas. Nesse contexto, os dados de Kiyuna (2004) comprovam as preocupações de Gatti (2004), pois, ao discorrer sobre o mercado de orquídeas, aponta que, até 1994, os valores relacionados às exportações baseadas em híbridos, variedades e espécies autóctones sempre foram maiores que aqueles das importações e mantiveram-se constantes até 1999, último ano avaliado. Entretanto, os valores das importações (baseados em híbridos e variedades de espécies exóticas) apresentaram grande instabilidade e, a partir de 1994 (até 1999, último ano avaliado), mostram sempre valores superiores às exportações, com um pico máximo em 1996. Como consequência, hoje o mercado interno oferece muito mais opções de cores, formas, tamanho e durabilidade em flores de orquídeas

exóticas (*Dendrobium*, *Cymbidium* e *Phalaenopsis*) do que aquelas encontradas em orquídeas nativas.

As consequências comerciais dos trabalhos efetuados com base em estoques limitados ou com variabilidade genética limitada

Quando comenta sobre a exportação brasileira de flores de gladíolos, espécies alternativas apontadas por outros autores como detentoras de qualidades suficientes para alavancar o desenvolvimento da floricultura no Brasil, Gatti (2004) aponta que as exportações têm decrescido nos últimos anos e que, em 1990, apenas U$ 73 mil foram comercializados, ou seja, sete vezes menos que o montante exportado em 1983. Partindo-se do princípio que o Brasil não dispõe de espécies nativas de gladíolos – originárias da Ásia, África e especialmente do Mediterrâneo – e que todo o germoplasma disponível foi introduzido, Gatti (2004) atribui o decréscimo das exportações ao fato de existirem poucas variedades adaptadas e poucas variedades em cultivo em nosso país, ou seja, mostra a vulnerabilidade da cultura e a existência de poucas opções comerciais. Portanto, nesse caso, os programas de melhoramento são realizados a partir da exploração de uma estreita variabilidade (perto de uma dúzia de variedades diferentes) em detrimento e concorrência ao grande número de variedades europeias, cuja comercialização se aproxima a 300 variedades de gladíolos de diferentes formas, tamanhos, cores e durabilidade.

Conservação

Antes de discutirmos a conservação de recursos genéticos de plantas ornamentais, retornaremos ao tema diversidade biológica brasileira. Essa diversidade exige uma reflexão sobre o imenso patrimônio existente no Pe os padrões de sua exploração, quer na perspectiva de sua riqueza, quer na perspectiva de sua utilização sustentável, quer na perspectiva

de sua conservação. A relação entre a riqueza natural e a degradação ambiental, não só em âmbito regional, mas do ponto de vista da sustentabilidade ecossistêmica mundial, é responsabilidade que cabe tanto aos estados como a todo indivíduo, tendo por base as implicações diretas nas condições de sobrevivência das populações de todos os seres vivos. Ao pensarmos o contexto da crise ambiental na atualidade, pondera-se que a capacidade de suporte da biodiversidade não é compatível com os níveis crescentes de consumo existentes, considerando que aquela tende a ser reduzida a níveis críticos à medida que a crise ambiental se agrava. Nesse contexto, o grande potencial que ela representa ficaria comprometido e, por extensão, todas as iniciativas de desenvolvimento tecnológico dependente de recursos naturais. O setor de flores e plantas ornamentais é diretamente dependente desses recursos e, por consequência, deve ser afetado de forma significativa.

A discussão das questões acerca da relevância do conhecimento detalhado da diversidade biológica brasileira tem evidenciado não só a magnitude de sua importância, das ameaças a que está sujeita, do risco para as gerações futuras, mas, também, a clareza sobre as incertezas do conhecimento que se tem sobre ela para a correta gestão dos recursos que a compõe. Nesse contexto, a reflexão mais direta que fazemos consiste no fato de que a degradação ambiental não consiste só e exclusivamente na extensiva depredação dos biomas, mas, de igual modo, na má utilização dos recursos deles advindos. Ao selecionarmos e utilizarmos uma ínfima parcela dos recursos genéticos de um determinado organismo vivo, promovemos gradativamente – e pelos padrões atuais de consumo em proporções cada vez mais alarmantes – o assoreamento da diversidade tanto genética como biológica desses recursos.

Por esse motivo, cabem discussões amparadas por aspectos técnicos e científicos que induzam discussões em âmbito ampliado para o cenário político, econômico e social para formulação de políticas alicerçadas em princípios coerentes com os padrões de sustentabilidade da natureza. A

importância da preservação de recursos genéticos tem implicação essencial e inegável para o meio ambiente, mas a importância se aplica em termos cruciais para a economia. A sobrevivência de segmentos de mercado diretamente dependentes de recursos naturais vegetais, como é o caso do segmento de flores e plantas ornamentais – tão sensível e dependente de inovação constante –, será cada vez mais determinada pela capacidade de os estados de induzirem novas posturas em relação à preservação e ao uso sustentável de seus recursos naturais e de desenvolver infraestrutura e processos logísticos capazes de atender demandas diversificadas em tempo hábil.

Considerando que os novos cenários econômicos baseados no conhecimento privilegiam iniciativas inovadoras fundamentadas em posicionamentos estratégicos sólidos – cuja base requer arranjos competitivos –, será fundamental para o país, caso queira expandir sua posição no mercado de plantas e flores ornamentais, promover programas que viabilizem o conhecimento em profundidade de suas potencialidades, para o atendimento de uma demanda crescente no setor.

A 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. Consequentemente, a conservação da biodiversidade não deve resumir-se à proteção da natureza frente ao desenvolvimento, mas procurar satisfazer a demanda humana por recursos biológicos e, simultaneamente, garantir a sustentabilidade, em longo prazo, da enorme riqueza biótica do planeta" (INSTITUTO DE RECURSOS MUNDIAIS *apud* NASS, 2005).

Somente por meio do uso dos recursos genéticos é que os benefícios sociais e econômicos da conservação de RGs podem ser compreendidos. Desse modo, a coleta, introdução, caracterização, avaliação e documentação de germoplasma são ações pertencentes a estratégias maiores, quais sejam: conservação e utilização (Figura 4). Especialistas em recursos ge-

néticos enfatizam que o sucesso de um programa de pesquisa em recursos genéticos depende essencialmente de um bem fundamentado sistema de conservação de germoplasma (FERREIRA, 1988).

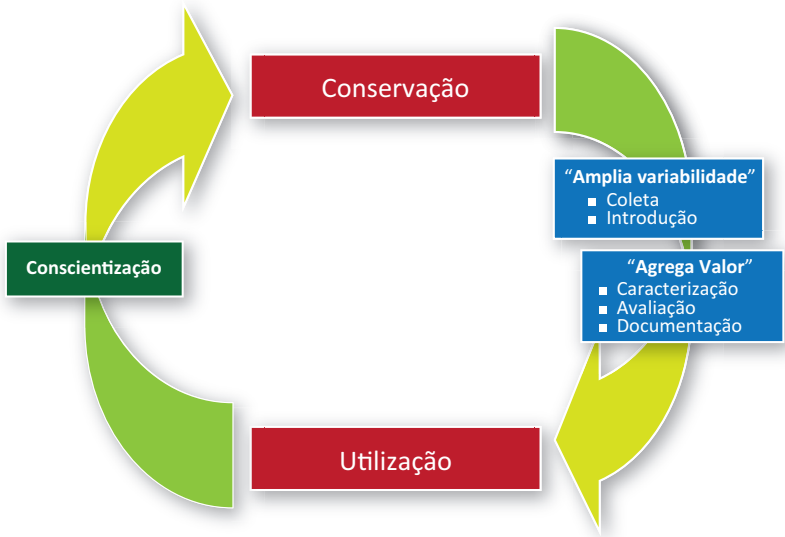


Figura 4. Desenvolvimento de atividades relacionadas e seus desdobramentos para utilização e conservação de recursos genéticos.

Frente à acelerada degradação dos ecossistemas naturais em todo o globo, incluindo áreas já modificadas por atividades agrícolas, evidencia-se que o estabelecimento de processos para conservar recursos genéticos é um problema urgente e tem sido abordado mundialmente de duas maneiras complementares. Pela conservação in situ, que mantém as espécies no ambiente natural, e pela conservação ex situ, na qual as espécies são amplamente manejadas fora do seu ambiente natural (WALTER et al., 2005a). Independentemente do processo a ser utilizado para conservação, o germoplasma deve ser organizado em Bancos de Germoplasma (BG), ou seja, a base física onde o germoplasma é conservado. Os BGs geralmente pertencem a centros ou instituições públicas e privadas. Um Banco de Germoplasma possui os seguintes objetivos: (a) conservar

fontes genéticas para uso futuro; (b) manter as coleções devidamente caracterizadas e avaliadas; e (c) prevenir e evitar perdas de recursos genéticos (GOEDERT, 1988).

Alguns autores definem os materiais e apontam a conservação in situ como a estratégia mais apropriada, como, por exemplo, para populações de espécies nativas, principalmente para espécies perenes, notadamente as florestais (FERREIRA, 1988). Além das florestais, Nass (2001) acredita que a conservação in situ seja a estratégia mais indicada para espécies silvestres das plantas cultivadas, forrageiras e fruteiras. Ainda nesse contexto, Hoyt (1992) ressalta que somente as espécies silvestres podem ser candidatas à conservação in situ, uma vez que somente elas vivem em comunidades naturais. São várias as unidades operacionais voltadas para conservação in situ, destacando-se parques nacionais, reservas biológicas, reservas genéticas, estações ecológicas, santuários de vida silvestre, etc. As unidades, acima mencionadas, embora preservem uma ampla gama de diversidade vegetal, são instituídas principalmente visando à conservação de espécies florestais. Desse modo, ao dirigir-se o foco de conservação para espécies florestais em suas comunidades naturais, involuntariamente, passa-se também a conservar uma grande diversidade de espécies não arbóreas, incluindo-se aí diversas espécies ornamentais. Entretanto, o único processo de conservação que vem sendo utilizado no país, para as plantas ornamentais, é o ex situ (MATTHES et al, 1988).

A conservação ex situ desdobra-se em várias modalidades, entre as quais a conservação in vitro, em coleções a campo (in vivo), em câmaras frias, em nitrogênio líquido etc, pois depende do comportamento reprodutivo de cada espécie. Goedert (1988), citando outros autores, aponta que, no caso das plantas que se reproduzem por sementes, e para os propósitos de armazenamento, as sementes são classificadas em dois grupos: (a) ortodoxas – aquelas que podem ser dessecadas a baixos teores de umidade (4% a 6%) e armazenadas sob temperaturas subzero, por longos períodos, sem que o poder germinativo sofra alteração; e (b) recalcitran-

tes – aquelas que morrem rapidamente quando dessecadas abaixo de determinados níveis críticos de umidade.

Até o momento, somente foi possível se definir métodos de armazenamento em longo prazo para sementes ortodoxas. Para espécies que apresentam sementes recalcitrantes ou para aquelas que não produzem sementes (se reproduzem por propagação vegetativa), outros métodos são utilizados, entre eles, a conservação a campo (in vivo) ou in vitro.

Do mesmo modo que para coleta e introdução, para conservação de plantas ornamentais, no Brasil, existem dois setores atuantes: o informal (geralmente privado) e o formal (oficial e público). Para o primeiro setor, verificamos que existe um número expressivo de viveirista e de coleções de plantas ornamentais. Quanto às coleções, praticamente todas pertencem a particulares e todas são conservadas in vivo (ou em campo ou em casas de vegetação). As instituições que mantêm coleções são muito poucas e encontram dificuldades econômicas para sua manutenção. De modo geral, o maior problema das coleções não institucionais é o sentido personalizado que assumem. Se um determinado pesquisador ou amador consegue constituir uma coleção, ele a mantém com justificativas, metodologia e, principalmente, com recursos próprios, sendo a existência da coleção diretamente vinculada à existência do seu responsável. Nem sempre existe a mentalidade de perpetuação daquele trabalho por parte dos familiares ou de alguma instituição competente (isso quase aconteceu com a coleção de Burle Marx, após a sua morte, caso não fosse criada uma Fundação que se comprometesse com a conservação de uma das maiores e mais importantes coleções de plantas ornamentais do Brasil). Portanto, as coleções, de modo geral, assumem um caráter momentâneo, passageiro, efêmero. Mesmo com todos esses problemas, as coleções particulares ainda são de grande importância pela quantidade, pelo grande número de colecionadores e pela qualidade do material sob cultivo, já que são colecionados híbridos de grande valor comercial e espécies silvestres de relevante valor ecológico (MATTHES, 1988).

Aqui, faremos referência a Matthes (1988), quando afirma que "as instituições responsáveis pela conservação de plantas ornamentais ex situ, simplesmente as mantém sob cultivo, não se caracterizando como um banco de germoplasma" e tentar expressar as diferenças entre um BG e uma coleção qualquer de plantas ornamentais (desde já, alertando que as coleções e BGs serão tratados de forma generalizada). A essência dos trabalhos desenvolvidos é basicamente a mesma, ou seja, conservação para uso imediato ou posterior, porém o que os diferencia é o tratamento relacionado às atividades envolvidas em cada processo. Então, de forma geral:

1. Uma coleção geralmente pertence a um particular (setor informal) e a existência da coleção estará diretamente vinculada à existência do seu responsável; por esse motivo, uma coleção assume um caráter passageiro.

Um BG deve ser, preferencialmente, vinculado a uma instituição (setor formal) seja pública ou privada; por esse motivo, assume um caráter de perpetuidade.

2. A preocupação maior na composição de uma coleção seria a de resguardar a diversidade interespecífica, ou seja, a diversidade entre espécies diferentes, não necessariamente relacionadas, ou mesmo espécies pertencentes a gêneros e famílias diferentes. Essa diversidade pode ser expressa da seguinte forma (A, B, C, D,...n) e está de acordo com os objetivos comerciais da coleção e do viveirista, pois visa oferecer o maior número bem como variadas opções para o consumidor. Um bom exemplo dessa diversidade é um zoológico, onde encontramos um casal de leões, um de zebras, um de ursos, etc, ou um viveiro comercial de plantas, onde percebemos a existência de poucas plantas pertencentes a famílias diferentes: algumas bromélias, rosas, gladíolos, etc.

Em um BG, a preocupação recai na conservação da diversidade intraespecífica, ou seja, a diversidade dentro de uma mesma espécie ou entre espécies relacionadas. Essa diversidade pode ser expressa da seguinte forma (A1, A2, A3, A4, ... n; B1, B2, B3, B4, ... n). Portanto, deve-se ter um BG de espécies de rosas e espécies relacionadas; um BG de gladíolos e espécies relacionadas, onde estarão reunidos os recursos genéticos disponíveis de rosa; os RG de gladíolo, etc.

3. Em uma coleção, encontra-se geralmente amostra de apenas um ou poucos indivíduos de cada espécie ou uma melhor representatividade apenas daquelas espécies com maior valor comercial.

No BG encontram-se amostras compostas por indivíduos pertencentes a uma mesma população (um acesso) e de diferentes populações (diferentes acessos) da mesma espécie ou de espécies relacionadas.

4. Em uma coleção, o tipo de conservação é geralmente in vivo (ou em campo ou em casas de vegetação). A manutenção dos exemplares se faz por multiplicação vegetativa visando à perpetuação das características desejadas. Quando existem sementes, o número geralmente é insuficiente ou são acondicionadas em condições não apropriadas.

No BG os processos de conservação podem contemplar sementes, explantes ou plantas a campo. No caso da espécie produzir sementes de comportamento ortodoxo, a preferência deve recair sobre a conservação de germoplasma semente, em câmaras frias devido à simplicidade e eficácia. Deve-se realizar a multiplicação de todos os acessos até a obtenção de um número suficiente de sementes para que seja mantida a integridade genética daquele acesso. Além da identificação do comportamento das sementes, deve-se indicar o método mais apropriado para conservação (curto, médio e longo prazo), armazená-las de forma eficiente (com baixo teor de umidade e geralmente envelope de alumínio) e proceder ao monitoramento periódico do poder germinativo.

5. Em uma coleção, geralmente se verifica apenas atividade de avaliação, ou seja, aferição de características influenciáveis por fatores bióticos e abióticos. Normalmente, estas são as características de valor agronômico (ex.: rendimento da cultura, identificação de fontes de resistência a patógenos).

No BG desenvolvem-se atividades de avaliação e caracterização. A caracterização visa estabelecer as diferenças entre acessos de uma mesma espécie (mostrar em que A1 é diferente de A2, em que A2≠A3, em que A3≠A4, ...). Para tanto, são aplicados descritores morfológicos, fenológicos e agronômicos complementados por atividades citogenéticas e bioquímicas. A falta de informações relacionadas aos processos de avaliação e caracterização é uma das principais causas do uso limitado de acessos mantidos em bancos de germoplasma.

Um interessante exemplo de caracterização morfológica pode ser observado em Bicalho (1980), da Esalq – USP, a partir de exemplares pertencentes à coleção de orquídeas daquela instituição. Todos os exemplares estão com suas flores representadas em uma "ficha de diagnose floral", cujas peças florais são distendidas, coladas e acompanhadas de informações sobre as dimensões, colorido das peças, data, número e nome da planta. A partir dessas fichas, podem-se detectar indivíduos "elite", mutantes, bem como realizar análises dentre e entre populações, já que, em alguns casos, existem vários indivíduos representando uma população, bem como várias populações. Essa metodologia foi largamente empregada em teses taxonômicas (MARTINS, 1967) e pode ser utilizada para subsidiar iniciativas voltadas para o melhoramento de orquídeas.

6. Em uma coleção, os dados de origem, relacionados às atividades de coleta ou de introdução, são insuficientes ou inexistentes.

No BG é realizada a documentação do germoplasma envolvendo dados de passaporte (aqueles recolhidos durante a coleta como informações geográficas, ecológicas, fisiológicas e morfológicas), dados de caracterização e de avaliação.

Aqui gostaríamos de utilizar novamente o exemplo mencionado por Tombolato (2001) e Tombolato et al. (2002), para gladíolo (já mencionado), com o intuito de ilustrar os resultados obtidos a partir da conscientização da importância para com o desenvolvimento de atividades relacionadas aos recursos genéticos. O IAC, uma instituição pública, na década de 1960, acreditou na potencialidade ornamental dos gladíolos e iniciou o programa de melhoramento genético, visando à comercialização interna e externa. Antes dissoser formalizado, a instituição já havia mostrado interesse em formar um Banco de Germoplasma, pois a prática de coleta e introdução visando reunir "matéria prima" para atender a pesquisa já vinha sendo realizada. Entretanto, esse estoque de germoplasma foi apenas parcialmente trabalhado, ou seja, foram lançados inicialmente materiais oriundos de seleção ou avaliação preliminar. Foram selecionados aqueles que, àquela época, apresentavam o melhor rendimento para as práticas culturais a que foram submetidos ou que apresentaram os melhores desempenhos frente aos estresses bióticos e abióticos. Entretanto, juntamente com o material introduzido, foi introduzido o fungo responsável pela ferrugem-do-gladíolo. Aliado à introdução do fungo e ao fato de existirem poucas variedades em cultivo no país, tanto o comércio interno e externo de exportação de flores quanto o próprio programa de melhoramento declinaram. Entretanto, com a revitalização do programa, na década de 1980, foram introduzidos novos materiais e todo o estoque foi submetido à prática de caracterização (identificação de novos tipos morfológicos) e de avaliação profunda. Como resultado, foi identificado um material que apresentava resistência ou tolerância ao fungo e, por esse motivo, foi intensamente empregado na base das linhagens híbridas. Hoje o mercado possui duas novas variedades rústicas ("Carmim" e "Paranapanema") adaptadas à região e tolerante à ferrugem.

Do mesmo modo que o gladíolo, novas variedades foram recentemente lançadas pelo IAC pertencentes aos programas de melhoramento de *Hippeastrum* spp., *Alstroemeria* spp., *Hemerocallis* spp. e *Anturium* spp. (TOMBOLATO, 2004).

Segundo o contexto traçado, percebe-se que a conservação de germoplasma de flores e plantas ornamentais no País depende de um conjunto de fatores relacionado ao acesso a informações estruturadas sobre a biodiversidade brasileira. Para que o uso desse patrimônio seja efetivo, em primeira instância, devem ser estimulados estudos científicos para o entendimento de sua distribuição geográfica, constituição e dinâmicas próprias. Conforme Giulietti (2005), estudos dessa natureza ainda se encontram em fase exploratória; os autores entendem que "as coleções botânicas no Brasil têm uma média de 0,441 espécimes/km^2, variando de 1,807 no Sul do Brasil até 0,133 no Norte", quando seria necessário pelo menos 1 espécime/Km^2 para o desenvolvimento de uma flora regional.

Nesse contexto, surgiram, a partir de recomendações da Sociedade Botânica do Brasil, iniciativas de levantamento da flora local em muitos estados do Brasil, como é ocaso da Flora do Distrito Federal, Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo, Flora do Rio Grande do Sul, entre outras. Existem iniciativas de resgate dos tipos das plantas que compõem a flora brasileira em coleções no exterior, o que facilitará a identificação dos componentes da flora nacional.

Essas iniciativas fazem parte de uma reestruturação na forma de condução das coleções biológicas, conforme Egler (2006), os quais afirmam que, nos países desenvolvidos, as coleções biológicas estão passando por um processo de readequação tecnológica e gerencial. O principal objetivo é a incorporação de novos métodos e processos que permitam a caracterização rápida e confiável do acervo, assim como a introdução de procedimentos gerenciais com a finalidade de facilitar a rastreabilidade do processamento das amostras e das informações a elas associadas.

No Brasil, a situação das coleções biológicas está muito longe de ser considerada adequada. Muitas delas se encontram em condições precárias em decorrência de infraestrutura física inadequada e (ou) da falta de recursos humanos especializados. Se mantido o quadro atual, será muito difícil para o País atender à demanda de conhecimento e de exploração

sustentável do capital biológico associado à diversidade de ecossistemas e à riqueza de recursos genéticos e, para os cientistas brasileiros, cumprir a missão de inventariar, descobrir e descrever a diversidade de espécies brasileiras, além de analisar, sintetizar e compartilhar o conhecimento, as informações e os dados primários oriundos desse esforço em prol da ciência e da sociedade.

Para Pinto (1999) e Pinto (2001):

> "a manutenção e utilização dos recursos genéticos têm viabilidade fundamentada na coleta e introdução de acessos, conservação e intercâmbio, bem como na caracterização e avaliação de germoplasma. A conservação oferece o suporte aos trabalhos de melhoramento genético, possibilita intercâmbio de germoplasma e, especialmente, a preservação da variabilidade genética, enquanto a caracterização e avaliação permitem conhecer qualidades e potencialidades do germoplasma".

Da mesma forma que se multiplicam os esforços para efetuar o levantamento da flora, crescem as iniciativas de geração de listas de espécies ameaçadas em âmbito regional. Em 2004, a Fundação Biodiversitas, em parceria com o Jardim Botânico do Rio de Janeiro e a Sociedade Botânica do Brasil, iniciaram a atualização da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção. Segundo Giulietti (2005), a lista original de 1992 (Portaria Ibama, 006/92) apresentava 106 espécies de angiosperma, 1 gimnosperma (*Araucaria angustifolia*) e 1pteridófita (*Dicksonia selowiana*). A autora pontua que, entre as monocotiledôneas, Bromeliaceae e Orchidaceae foram as famílias que obtiveram maior número de espécies listadas: 15 e 9 respectivamente. Entre as dicotiledôneas, Moraceae (sobretudo o gênero Dorstenia), Chrysobalanaceae, Lauraceae e Leguminosae foram as famílias cujas espécies mais figuraram na lista citada. Segundo Oldfield et al. (apud. GIULIETTI et al., 2005), das 10.091 espécies de árvores ameaçadas listadas pela The World Conservation Union – IUCN, em âmbito mundial, 405 têm ocorrência em território nacional. Considerando que o nível de conhecimento global sobre a flora do País é ainda incipiente;

o nível do avanço da degradação dos biomas brasileiros; e os níveis crescentes de inclusão de espécies em listas de plantas ameaçadas, podemos supor que muitas espécies deverão ser extintas antes que sejam devidamente catalogadas e estudadas em profundidade pela ciência.

O programa de Conservação e Uso Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira (Probio), desenvolvido pelo Ministério do Meio Ambiente, estabeleceu em conjunto com diversas instituições nacionais e internacionais, no período de 1998 a 2000, uma série de estudos para o estabelecimento de áreas prioritárias para a conservação dos biomas brasileiros. As áreas estabelecidas foram, em grande parte, reflexo do nível de conhecimento da biodiversidade componente ou pela importância potencial levando em consideração os contextos regionais. Está claro que essa iniciativa é somente um dos elementos para a consolidação de uma política de conservação que possibilite o conhecimento aprofundado da biodiversidade e suas possibilidades de uso sustentável. Para Giulietti et al. (2005):

> "O progresso na conservação da biodiversidade do Brasil, especialmente com respeito à sua flora, depende de um maior número de taxonomistas com experiência de campo e de laboratório, que se especializem em algumas das famílias e que façam coleções e levantamentos florísticos em nível nacional. O trabalho deve ser concentrado em identificar e inventariar os hotspots e em manter as coleções de herbários, coleções vivas e coleções de DNA. Tal programa, inevitavelmente, dependerá de projetos regionais que envolvam um maior número de instituições e de especialistas conectados através de redes e financiados por fontes governamentais e privadas".

A conservação dos recursos da flora nativa com potencial de uso ornamental depende, em grande parte, das estratégias do Estado para promover a conservação da flora nacional. Conforme Peixoto et al. (2006), será necessário desenvolver ações em médio e longo prazo para gerar estratégias que modernizem a infraestrutura nacional, a fim de dotar o

País de condições necessárias para a ampliação do estudo da flora. Para os autores:

> "Apesar do grande desenvolvimento observado nas últimas cinco décadas, o Brasil ainda carece de informações abrangentes sobre sua biodiversidade. Não há exagero em afirmar que se conhece menos de um terço da diversidade biológica brasileira, e que, portanto, ainda há muito a ser feito. O número de taxonomistas brasileiros em atividade atualmente, embora muito superior ao de décadas atrás, ainda é insuficiente para a tarefa de inventariar a biodiversidade brasileira. Para suprir essa necessidade, faz-se necessário formar, num curto espaço de tempo, um número significativo de taxonomistas. Destes, boa parte poderá ser capacitada nos centros de pesquisa existentes no País, enquanto, em alguns casos, haverá necessidade de capacitação no exterior, pois aqui não há especialistas em todos os grupos taxonômicos".

A principal fonte de conservação de germoplasma no país, independente da forma de conservação considerada é, indubitavelmente, os jardins botânicos. A Resolução Conama Nº 339, de 3 de Agosto de 2003, considera Jardim Botânico:

> "área protegida, constituída, no seu todo ou em parte, por coleções de plantas vivas cientificamente reconhecidas, organizadas, documentadas e identificadas, com a finalidade de estudo, pesquisa e documentação do patrimônio florístico do país, acessível ao público, no todo ou em parte, servindo à educação, à cultura, ao lazer e à conservação do meio ambiente" (REDE BRASILEIRA DE JARDINS BOTÂNICOS, 2004).

As normas internacionais para jardins botânicos (BRASIL, 2001) realçam a importância do desenvolvimento de ações de conservação integrada da diversidade biológica que contemplem tanto a conservação in situ quanto a conservação ex situ.

No Brasil, existem cerca de 29 jardins botânicos, os quais possuem e conservam, em seus acervos de coleções vivas, importantes bancos de

germoplasma e de material genético, principalmente de espécies medicinais, ornamentais e florestais (REDE BRASILEIRA DE JARDINS BOTÂNICOS, 2004).

Para compor um panorama completo sobre o estado de conservação das plantas ornamentais da flora brasileira e das exóticas cultivadas, seria interessante investigar o percentual de espécies abrigadas em coleções particulares. No entanto, pouco se sabe sobre o estado de organização e conservação dessas coleções. Um agravante que impede considerar coleções particulares para traçar tal panorama é a carência e, na maioria dos casos, ausência de dados confiáveis sobre a origem e sobre a identificação dos espécimes. É bem verdade que existem casos isolados que figuram entre as raras exceções a essa regra, haja vista a notoriedade de grandes especialistas que mantêm coleções particulares com rígido padrão de confiabilidade dos dados de coleta ou origem.

As associações de colecionadores de plantas ornamentais podem ser um indício do volume de espécies que são mais visadas e, nesse contexto, o conhecimento das coleções particulares de plantas ornamentais poderia servir tanto para estimular a prática da conscientização para a preservação quanto para estimar a quantidade de espécies da flora nacional ou exótica que está em cultivo, já que não seria de todo seguro falar em conservação nesse caso.

Pelo exposto, a informação mais segura para o entendimento aprofundado do estado de conservação de espécies ornamentais da flora brasileira ou de exóticas cultivadas está nos jardins botânicos e nos bancos de germoplasma existentes no País.

Provavelmente esse aspecto reflita a necessidade urgente de formação de recursos humanos para estruturação de equipes preparadas para o grande desafio de conhecer e utilizar, de forma sustentável, a biodiversidade do Brasil, pois são poucas as dessa natureza que informam possuir programas que envolvem a sociedade no uso sustentável dos recursos

naturais que manejam. A política de coleções da Rede Brasileira de Jardins Botânicos Brasileiros prevê em seu artigo 28º que:

> "Como o compromisso de repartir os benefícios do uso dos recursos genéticos, suas progênies e/ou derivados os jardins botânicos e instituições congêneres deverão dividir os benefícios com as partes envolvidas, sejam outros jardins botânicos e instituições congêneres ou comunidades tradicionais, pois o objetivo de repartir benefícios, além de ser justo, deveria servir de incentivos e prover instituições de recursos para a conservação da diversidade biológica e uso sustentável de seus componentes." (REDE BRAILEIRA DE JARDINS BOTÂNICOS, 2004).

As plantas ornamentais que compõem a flora brasileira são matrizes de inúmeras espécies horticulturais existentes no mercado de flores e plantas ornamentais. Além dos componentes naturais e a importância ecológica por esse desempenhada, existem inúmeros híbridos cultivados, mantidos em coleções particulares, que deveriam ser de igual modo preservados. O saque das plantas ornamentais nos biomas do País, por colecionadores ou comunidades carentes, é causado, em grande parte, pela falta de políticas públicas para o setor que inclua trabalhadores que atuem em âmbito familiar com a perspectiva de desenvolver de forma regionalizada o mercado de flores e plantas ornamentais.

A conscientização de que esse recurso, a exemplo de todos os recursos naturais, guarda um equilíbrio tênue entre a necessidade do homem e a necessidade da natureza é um caminho que se trilha partindo do compartilhamento de conhecimentos associado a programas locais de incentivo de propagação de essências nativas da flora ornamental; iniciativa que poderia equilibrar as forças que pressionam de forma violenta esse patrimônio, considerando o processo atual de perda da diversidade e as necessidades de desenvolvimento regional e potencialidades econômicas do setor. Esse pode ser um caminho positivo para a conservação desse recurso. A fim de consolidar as estruturas para a geração de benefícios

sociais mediante o uso dos recursos genéticos vegetais, a pesquisa tem um papel preponderante, porém carente de efetividade no país. No tópico seguinte, a guisa de conclusão, serão discutidos aspectos da pesquisa relacionados ao uso desse recurso natural.

A Pesquisa

O Plano Global de Ação para Recursos Genéticos voltado para agricultura e alimentação (aprovado na Conferência Internacional de Recursos Genéticos, em Leipzig, Alemanha em 1996) enfatiza que "somente através do uso dos recursos genéticos vegetais é que os benefícios sociais e econômicos da conservação daqueles recursos podem ser compreendidos" (NASS, 2001). Ampliar o conhecimento sobre um determinado recurso genético é agregar valor àquele recurso. Quanto mais valor agregado, maiores serão as chances de uso daquele material. Desse modo, somente a pesquisa (para o nosso caso entendida como o desenvolvimento de atividades em pré-melhoramento e em programas institucionais de melhoramento genético) é capaz de agregar valor ao germoplasma de plantas ornamentais e, por consequência, otimizar o uso daqueles recursos genéticos. Quanto maior o uso, maiores serão as preocupações voltadas para a conservação (Figura 4).

Nenhum país ou região pode ser considerado autossuficiente em termos de recursos genéticos vegetais. Por exemplo, todo o arroz, feijão e soja consumidos no Brasil foram introduzidos ou são produtos "melhorados" de material introduzido, pois o Brasil não é centro de diversidade de nenhum desses produtos. Para plantas ornamentais, isso também é verdade e, por esse motivo, não podemos ser contrários à utilização e comercialização de plantas exóticas. Entretanto, considerando a diversidade, a potencialidade e os motivos anteriormente comentados (segurança biológica, por ex.), acreditamos que muitas plantas autóctones apresentam potencial que justifique a devida utilização. Para que isso aconteça, devemos "agregar valor" a esse germoplasma por meio de pesquisa e do

desenvolvimento das atividades relacionadas aos RGs (coleta/introdução, caracterização/avaliação, documentação e conservação de germoplasma). Tudo isso pode ser resumido na constatação de Ford-Lloyd e Jackson (1986), ou seja, "o sucesso pretendido depende da disponibilidade e da qualidade das informações geradas que capacitam os melhoristas a tomarem decisões sobre quais materiais devem ser utilizados nos programas".

Entretanto, a pesquisa voltada para plantas ornamentais no Brasil ainda não é uma prática generalizada, e está longe disso. Depende da atuação pontual de poucas instituições e de poucos pesquisadores envolvidos. A comprovação desse fato pode ser percebida no número reduzido ou ausência de programas de melhoramento em plantas ornamentais, de matérias curriculares oferecidas nas universidades e de teses em pós-graduação no assunto.

Como dissemos anteriormente para a agricultura, e agora adaptando os conceitos para plantas ornamentais, os recursos genéticos disponíveis de plantas ornamentais constituem-se em uma pequena parcela do reino vegetal, da qual se exige a máxima eficiência produtiva para suprir a crescente demanda de mercado. Entretanto, percebe-se que, em pouquíssimas instituições tradicionais (nacionais e internacionais), a compreensão e conscientização foram efetivamente transformadas em ações voltadas para a conservação daqueles recursos genéticos. Na maioria dos casos, isso não aconteceu. Por falta de ações integradas (coleta, introdução, caracterização, avaliação, documentação e conservação de recursos genéticos), percebe-se que a variabilidade genética de muitos recursos foi de tal maneira reduzida que aqueles se tornaram altamente vulneráveis, com consequências nefastas para o aproveitamento futuro. Atualmente, muitas instituições pretendem a reversão desse quadro por meio da pesquisa e conservação de espécies relacionadas àqueles recursos genéticos (espécies silvestres, espécies relacionadas e obsoletas etc.). Essa conservação visa salvaguardar o germoplasma, ampliar a variabilidade genética

disponível e estimular a utilização desses recursos por meio da obtenção de variedades que apresentem incorporação de genes de resistência, adaptadas aos diferentes padrões abióticos ou como fonte de novos tipos morfológicos para o mercado.

Apenas para ilustrar o que foi dito, podemos observar alguns exemplos como em Littlejohn (2001), em que são discutidos os desafios, as vantagens e limitações para utilização de espécies silvestres (espécies africanas de Proteaceae) em programas de melhoramento, visando à utilização comercial; em Heywood (2003), em que é valorizada a conservação de espécies silvestres visando à geração de novos tipos ornamentais; em González et al. (2003), em que é discutida e também valorizada a utilização de espécies silvestres de gladíolo como fonte alternativa de novas opções para o mercado; e em Accati e Remotti (2003), que se propõem a coletar variedades obsoletas de *Rosa* spp., e *Camellia* spp. visando ampliar a variabilidade disponível nesses produtos e incluí-las em futuros programas de melhoramento.

Mesmo cientes que o assunto plantas ornamentais não vem recebendo o devido valor e a devida prioridade nas instituições de pesquisa, não podemos deixar de registrar o esforço e a atuação do Instituto Agronômico de Campinas (JAC), da Sociedade de Floricultura e Plantas Ornamentais, da Universidade Federal de Viçosa, da Universidade Federal de Minas Gerais, entre outros que, através de seus pesquisadores, sempre mostraram interesse e resultados para com o desenvolvimento da floricultura brasileira.

Decisões Políticas e Novas Tecnologias: dois fatores que fazem diferença

Alguns fatores decisivos que, se implementados, serão capazes não só de estimular, mas de transformar o quadro atual no que tange à utilização dos recursos genéticos de plantas ornamentais no Brasil são apon-

tados na literatura (TOMBOLATO, 2001; TOMBOLATO et al., 2004). Entre eles, a tomada de decisões políticas como a aprovação e regulamentação das leis que tratam da proteção e registro de cultivares das espécies ornamentais. Tombolato acredita que a produção e comercialização de produtos de horticultura ornamental deverão sofrer influência radicalmente positiva, a partir da implementação dessas leis, com a abertura de novas perspectivas de investimento e geração de novas variedades por parte do setor formal e informal, pois aqueles terão a proteção da legislação sobre os produtos gerados.

Do mesmo modo, extraímos de Aragão (2006) outro tópico (vinculado à aplicação de novas tecnologias) capaz de revolucionar a utilização da biodiversidade (na qual estão contidos os recursos genéticos), ou seja, o desenvolvimento e a utilização de ferramentas biotecnológicas (técnicas recentes de engenharia genética) capazes de complementar as lacunas e ampliar as possibilidades atreladas à utilização de métodos convencionais de melhoramento. A utilização dessas ferramentas tem por objetivo maior acelerar a geração de novas variedades que contêm genes de características agronômicas, para as quais há muita dificuldade de se encontrar no conjunto gênico da espécie ou das espécies relacionadas. Em outras palavras, se conseguirmos identificar uma planta qualquer (um tomateiro, por exemplo) que apresente a característica de resistência ou tolerância ao fungo *Uromyces transversalis*, responsável pela ferrugem-do-gladíolo, nós poderemos identificar o gene responsável por essa resistência, isolá-lo, caracterizá-lo e inseri-lo em plantas de gladíolo por meio de ferramentas biotecnológicas.

Deve-se ressaltar que, por meio de ferramentas ou métodos convencionais de melhoramento genético, isso não seria possível, pois o tomate e o gladíolo pertencem a famílias e gêneros diferentes e não apresentam qualquer tipo de relacionamento (existem barreiras reprodutivas que impedem a troca de genes por métodos tradicionais de cruzamentos). Aragão (2006) aponta exemplos de características agronômicas que po-

derão ser manipuladas e que se aplicam perfeitamente para a geração de novas variedades de plantas ornamentais, quais sejam: resistência a doenças e insetos, tolerância a herbicidas, tolerância a estresses ambientais, melhoramento nutricional, modificação da coloração das flores, produção de frutos e flores de longa vida, alteração do ciclo de vida, modificação da arquitetura, aumento da eficiência na utilização de nutrientes, manipulação de aromas florais, entre outras.

Associado à geração de uma nova tecnologia, subsiste o pensamento pragmático de que a aplicação da mesma deverá revolucionar os processos atuais ao resolver todas as lacunas ou pendências deixadas por tecnologias antigas ou obsoletas. Entretanto, essas "novidades" não passam de ferramentas (de grande utilidade, mas às vezes de caráter temporário) a serem utilizadas em processos maiores e vitalícios. A pesquisa sempre vislumbrará o melhoramento das plantas para atender as demandas da sociedade e desenvolverá ferramentas pertinentes aos problemas contemporâneos. Por esse motivo, vale observarmos a opinião parcimoniosa de Borém e Milach (1999), a respeito desse assunto, em que é valorizada a geração de novas tecnologias em complemento aos métodos tradicionais:

> "A expectativa é de que o melhoramento de plantas, nas primeiras décadas do próximo milênio, continuará evoluindo, mas as mudanças não acontecerão de forma tão drástica. A fonte de genes mais utilizada no desenvolvimento varietal continuará sendo o germoplasma núcleo das espécies cultivadas. Os principais métodos para o desenvolvimento de novas variedades também serão aqueles que utilizam a hibridação. A mais onerosa etapa no desenvolvimento varietal continuará a ser a das avaliações de campo para as características quantitativas e a necessidade do trabalho em equipe multidisciplinar tornar-se-á mais evidente. A biotecnologia será gradativamente incorporada à rotina do melhoramento, como instrumento para desenvolver novas variedades, tornando o melhoramento genético mais preciso". (BORÉM; MILACH,1999).

Referências

ACCATI, E.; REMOTTI, D. Research and recovery of ancient ornamental plants in Italy to promote floricultural production. **Acta Horticulturae,** v. 598, p. 79-84, 2003.

ALMEIDA, I. M. G. de. **Importância de bactérias fitopatogênicas em plantas ornamentais e seu controle, 2007.**. Disponível em: <www.biologico.sp.gov.br>. Acesso em: 10 maio 2007.

ANGELIS NETO, G.; ANGELIS, B. L. D. Plantas ornamentais: do paisagismo a outras aplicações. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 5, n. 1, p. 12-19, 1999.

ARAGÃO, F. J. L. Engenharia Genética na Agricultura. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 155-193.

ASSIS, M. C. de; SAKURAGUI, C. M. Coleta e conservação de germoplasma de plantas ornamentais com ênfase em alstroemeriaceae e araceae. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 516-530.

BAÑERAS, J. C. Tendências no paisagismo. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 5, n. 2, p. 93-96, 1999.

BICALHO, H. D. Contribuição do departamento de genética, ESALQ, USP, à orquidofilia e orquidologia nacionais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ORQQUIDÓFILOS E ORQUIDÓLOGOS. Sociedade Brasileira de Orquidófilos (S.O.B.), 1, Rio de Janeiro. 1980. **Anais...** Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 1980. p. 61-69.

BLOSSFELD, H. A Utilização de plantas no paisagismo do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 4., 1983, Rio de Janeiro. **Anais...** Brasília, DF: EMBRAPA/DDT, 1984. p. 49-59.

BORÉM, A.; MILACH, S. K. O Melhoramento de plantas na virada do milênio. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 7, p. 68-72, jan./fev. 1999.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Normas internacionais de conservação para jardins botânicos**. Rio de Janeiro: Conselho Nacional do Meio Ambiente,

Rede Brasileira de Jardins Botânicos, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2001. 112 p.

CASTRO, C. E. F. Cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 4, n. 1/2, p. 1-46, 1998.

CASTRO, C. E. F. Estrutura da produção: caracterização da propriedade e avanços tecnológicos. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8, n. 1/2, p. 49-56, 2002.

CLARO, D. P.; SANTOS, A. C. dos; CLARO, P. B. O. Um diagnóstico do agregado da produção de flores do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 7, n. 1, p. 9-15, 2001.

COUTINHO, L. N. Problemas de introdução de doenças no país por meio da aquisição de plantas ornamentais exóticas, **Biológico**, v. 63, n. 1/2, p. 41-44, 2001.

DIAS, V. de S.; OLIVEIRA, M. R. V. de; PAULA, S. V. de. **Risco de introdução de pragas invasoras exóticas na importação de flores frescas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002. 4 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado Técnico, 68).

EGLER, I. (Coord.). **Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade, 2006.** Disponível em: < http://www.cria.org.br/cgee/documentos/estrategia.doc>. Acesso em: 15 mar. 2006.

ENGELS, J. M. M.; ARORA, R. K.; GUARINO, L. An Introduction to plant germplasm exploration and collecting: planning, methods and procedures follow-up. In: GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity:** technical guidelines. Wallingford: Cab International, 1995. p. 31-63.

FERREIRA, F. R. Conservação de Germoplasma In Vivo. In: ARAÚJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV, 1988. p. 96-101.

FORD-LLOYD, B.; JACKSON, M. **Plant genetic resources**: an Introduction to their Conservation and Use. London: E. Arnold, 1986. 146 p.

GATTI, E. U. A Evolução recente do comércio de produtos da floricultura no Brasil. In: BARROS, F. de; KERBAUY, G. B. (Org.). **Orquidologia sul-americana**: uma compilação científica. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Instituto de Botânica, 2004. p. 155-163. Palestra proferida em 1991, no 2nd Expointer Orquídeas, em São Paulo – SP.

GIACOMETTI, D. C. Introdução e Intercâmbio de Germoplasma. In: ARAÚJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV, 1988. p. 43-55.

GIULIETTI, A. M. Biodiversidade e conservação de plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, 2005.

GOEDERT, C. O. Conservação de germoplasma-semente. In: ARAÚJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1988, Jaboticabal. **Anais...**, Jaboticabal: FCAV. p. 78-95.

GONZÁLEZ, A.; LOACUTEPEZ, J.; BAÑÓN, S.; OCHOA, J.; FERNÁNDEZ, J. A.; MARTÍNEZ, J. J.; RODRÍGUEZ, R. Ornamental Use of Wild Species of Genus Gladiolus. **Acta Horticulturae,** v. 598, p. 59-63, 2003.

HEYWOOD, V. Conservation and Sustainable Use of Wild Species as Sources of New Ornamentals. In: DUZYAMAN, E.; TUZEL, Y. (Ed.). Proceedings of the International Symposium on Sustainable Use of Plant Biodiversity to Promote New Opportunities for Horticultural Production Development. **Acta Horticulturae**, v. 598, p. 43-53, 2003.

HOYT, E. **Conservação dos parentes silvestres das plantas cultivadas**. Wilmington, Delaware: Addison-Wesley Iberoamericana, 1992. 52 p.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Os pólos de produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamenta**l, v. 8, n. 1/2, p. 25-48, 2002.

KIYUNA, I. O Mercado Brasileiro de Orquídeas e de Outras Flores. In: BARROS, F. de; KERBAUY, G. B. (Org.). **Orquidologia sul-americana**: uma compilação científica. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Instituto de Botânica, 2004. p. 165-171.

LITTLEJOHN, G. M. The Challenges of breeding wild flower cultivars for use in commercial floriculture: african proteaceae. **Acta Horticulturae,** v. 552, p. 25-38, 2001.

MARTINS, P. S. **Análise de clines e revisão taxonômica da espécie miltonia spectabilis Ldl. (orchidaceae – oncidieae)**. 1967. 39 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba.

MATTHES, L. A. F.; LEITÃO FILHO, H. F.; MARTINS, F. R. Bosque dos Jequitibás (Campinas, SP): composição florística e fitossociológica do estrato arbóreo. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 5., 1988. **Anais...** São Paulo.

NASS, L. L. Utilização de Recursos Genéticos Vegetais no Melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 30-55.

PEIXOTO, L. A. **Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções botânicas brasileiras com base na formação de taxonomistas e na consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade**, 2006. Disponível em: < http://www.cria.org.br/cgee/documentos/botanica.doc>. Acesso em: 15 mar. 2006.

PEROSA, J. M. Y. Participação brasileira no mercado internacional de flores e plantas ornamentais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8, n. ½, p. 1-11, 2002.

PINTO, R. M de S. **Avaliação e caracterização de germoplasma e estabelecimento de descritores mínimos**. 1999. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal da Bahia. Escola de Agronomia. Cruz das Almas.

PINTO, R. M. de S. Avaliação e caracterização agronômica de germoplasma de mamão. **Magistra**, v. 13, n. 1, jan./jun. 2001.

REDE BRASILEIRA DE JARDINS BOTÂNICOS. **Diversidade biológica nos jardins botânicos**. Rio de Janeiro: Rede Brasileira de Jardins Botânicos, 2004. 99 p.

REDE BRASILEIRA DE JARDINS BOTÂNICOS. **Política de coleções da rede brasileira de jardins botânicos brasileiros.** Disponível em: < http://www.jbbr.gov.br/crag/política.thm>. Acesso em: 04 jan. 2006.

RIVAS, E. B. **Viroses de plantas ornamentais e medidas de controle, 2007**. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br>. Acesso em: 10 maio 2007.

SÁ, C. B. P. de (Coord.). **Caracterização do setor produtivo de flores e plantas ornamentais no Brasil**: 1995-1996. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Agropecuária, 2004. 75 p. (Estudos e pesquisas. Informação econômica, 2).

SATURNINO, H. M. A Floricultura no Brasil. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 1.,1979, Viçosa, MG. **Anais...**Viçosa, MG: UFV, 1979. p. 11-18.

SHEPHERD, G. J. Plantas terrestres. In: LEWINSOHN, T. M. (Org.). **Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2005. (Série Biodiversidade, n. 15). p.145-192.

STRINGHETA, A. C. O.; LIRIO, V. S.; SILVA, C. A. B.; REIS, B. S.; AGUIAR, D. R. D. Diagnóstico do segmento de produção da cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8, n. 1/2, p. 77-90, 2002.

TOMBOLATO, A. F. C. Melhoramento genético de plantas exóticas no Brasil. **Biológico**, v. 63, n. 1/2, p. 49-50, 2001.

TOMBOLATO, A. F. C.; CASTRO, J. L. de; MATTHES, L. A. F. Brazilian breeding program on gladiolus spp: and first results. **Acta Horticulturae**, v. 570, p. 219-224, 2002.

TOMBOLATO, A. F. C.; TORRES, R. B.; AZEVEDO, C. Programa de melhoramento genético de madressilva (*Alstroemeria spp.* Alstroemeriaceae). **O Agronômico**, v. 43, n. 1, p. 13-24, 1991.

TOMBOLATO, A. F. C.; VEIGA, R. F. de A.; BARBOSA, W.; COSTA, A. A.; BENATTI JÚNIOR, R.; PIRES, E. G. Domesticação e pré-melhoramento de plantas: I. ornamentais. **O Agronômico**, v. 56, n. 1, p. 12-14, 2004.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; BIANCHETTI, L. B. Coleta de Germoplasma Vegetal: Relevância e Conceitos Básicos. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005a. p. 28-55.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; BIANCHETTI, L. B. Princípios da Coleta de Germoplasma. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005b. p. 140-177.

15

Conservação e Manejo ex situ de Animais Silvestres

Natalia Inagaki de Albuquerque
Diva Anelie de Araujo Guimarães
Le Pendu Yvonnick
Áurea Linhares Martins
Romari Alejandra Martinez
José Augusto Pereira Carneiro Muniz
Igor Chamon Assumpção Seligmann
Cristiane Macedo Del Rio do Valle
Rodrigo Del Rio do Valle

Atualmente, o conceito de conservação faz parte do cotidiano da maioria das pessoas. Ninguém se considera alheio à perda da biodiversidade e às suas consequências. Até crianças, em diversos lugares do planeta, conhecem e se sensibilizam pela destruição das florestas e pela perda dos recursos vegetais e animais que compõem nossa biodiversidade. Apesar disso, a maioria das pessoas não sabe como contribuir de maneira efetiva para a diminuição dessa perda.

Essa situação inclusive tem causado dificuldade para pesquisadores do mundo todo que se veem limitados pela falta de acesso aos organismos, o que limita a aquisição de conhecimentos imprescindíveis para essa conservação ser viável. Nesse sentido, o papel do manejo ex situ ajuda a consolidar programas de conservação para quase qualquer espécie.

O que é Conservação Ex situ ?

Ao se defrontar com o conceito de conservação, as pessoas relacionam aos ecossistemas intocados, cheios de vida e afastados da mão do homem. Na verdade, podemos afirmar que não existe ecossistema no planeta alheio aos efeitos diretos ou indiretos da ação humana. Portanto, a preservação, que consiste na manutenção da biodiversidade sem intervenção humana direta, deu lugar ao conceito moderno de conservação, vinculado à prática e promoção do uso sensato dos recursos pelo homem, garantindo sua permanência no tempo e no espaço.

Ainda dentro desse conceito, a conservação ex situ refere-se à manutenção de elementos da biodiversidade, animal ou vegetal, fora da área natural de ocorrência deles. Inclui ainda a manutenção de estoques genéticos, entendendo que os recursos genéticos de uma espécie constituem-se na parte essencial da biodiversidade, responsável pelo desenvolvimento sustentável da ciência, da agricultura e da agroindústria (HUNTER, 1995). No caso dos recursos animais, essa atividade pode ser realizada desde coleções zoológicas, bancos de DNA detentores de recursos genéticos, até zoológicos, criadouros de fauna silvestre mantenedores e produtores de exemplares representativos da fauna local, nacional ou exótica.

As expedições científicas para descrição e caracterização da fauna geralmente envolvem a extração de indivíduos, que, quando sacrificados e taxidermizados seguindo critérios padronizados, podem ser mantidos em coleções zoológicas, em museus ou instituições acadêmicas ou de pesquisa (MARTINEZ et al., 2005). Essas atividades não só devem ser mantidas como incentivadas, pois há evidências da existência de várias espécies ainda não descritas e (ou) desconhecidas pela ciência, e da importância do registro da biodiversidade em ambientes tropicais.

Uma alternativa à coleta de animais de vida livre é a obtenção de registros indiretos, como fotografias, vídeos, pegadas ou outras evidências, junto a amostras não destrutivas do indivíduo para a obtenção de DNA, os quais constituiriam o banco de dados da espécie, sem o sacrifício de exemplares da vida silvestre (GIBBONS, 2002).

Os bancos de DNA originalmente criados para apoiar programas de reprodução, constituem-se no maior reservatório da biodiversidade ex situ da atualidade (RYDER et al., 2000). Obtido de diversas fontes, o DNA detém a informação completa do acervo genético de um indivíduo. Quando mantido adequadamente, pode ser preservado por décadas sem a perda de informação, que pode ser obtida por técnicas moleculares simples e cada vez mais econômicas (HILLIS et al., 1996).

Zoológicos

O conceito de zoológico historicamente foi reformulado até sua atual interpretação como unidade para conservação da biodiversidade. A antiga concepção de área exclusiva para entretenimento público, representada nos primeiros cativeiros da Europa, projetados sem considerar o bem-estar animal, deu lugar a uma maior preocupação com a ética no manejo, estimulando a formulação de normas específicas como a Instrução Normativa n° 4, de 4 de março de 2002, do Ministério do Meio Ambiente.

A legislação ambiental, na prática, é um dispositivo regulador que fundamenta o aprimoramento sistemático do manejo com recursos de enriquecimento ambiental e social. A finalidade é aproximar ao cativeiro as características do habitat de cada animal, considerando o conhecimento de sua biologia, a interação de espécies e a pesquisa etológica, visando beneficiar não apenas a reprodução, mas também a longevidade em cativeiro, inclusive em relação às patologias associadas ou não a essa manutenção.

A comprovação técnica de um zoológico para manejar espécies silvestres é primordial não apenas em relação aos órgãos de controle ambiental que executam vistorias periódicas para avaliação, mas no cumprimento da missão à qual a instituição se propõe. Esse é um ponto relevante a ser tratado como uma das principais diretrizes o qual ultrapassa a contextualização conservacionista e da educação ambiental que todo zoológico moderno deve incluir no seu plano diretor.

Os parâmetros para avaliação dos zoológicos são determinados considerando a classificação oficial em categorias ("C", "B" e "A") citadas na legislação e nas peculiaridades de cada instituição. Em resumo, os zoológicos requerem recursos humanos habilitados para a atividade (biólogos, médicos veterinários e tratadores treinados para a função), instalações adequadas e equipadas (laboratório para análises, ambulatório veterinário e áreas de quarentenário, manutenção e reprodução), segurança, bem como coleta de lixo patológico. Eles necessitam também de recursos de informação (entre estes, placas informativas com a identificação das espécies expostas, distribuição geográfica e a indicação quando se tratar de espécie ameaçada de extinção), programas de recuperação de animais ameaçados (filiação aos programas oficiais), programas de pesquisa e educação ambiental.

Além desses, é importante catalogar as espécies em cativeiro com a elaboração de *studbooks* regionais por espécie, controlar a genealogia dos animais, realizar levantamento da fauna livre ocorrente na área dos zoológicos e participar de parcerias entre instituições que possuam as mesmas espécies em cativeiro, sistematizando a troca de informações.

Aspectos gerais de manejo

As atividades de monitoramento diário de um zoológico iniciam com a triagem para indivíduos recém-chegados (procedência e histórico dos animais, levantamento biométrico, identificação por marcação ou *chip* e

outros dados controlados em fichas e livro de registro); período de quarentena de 40 a 60 dias antes do viveiro definitivo; avaliação geral; identificação como grupo de interesse para exposição (tombados ao patrimônio), pesquisa, permuta (excedente) e soltura (animais potencialmente aptos: sem problemas físicos ou comportamentais que comprometam a sobrevivência em vida livre); programa imunoprofilático com antiparasitários, vacinas e exames de fezes, urina e sangue (diagnósticos, investigação de DNA e citogenética); e tratamento clínico-cirúrgico assim como exame necrológico quando ocorrer óbito.

A avaliação para reintrodução de animais da fauna nativa em áreas pré-estabelecidas (catalogadas de acordo com a capacidade suporte de alimentação, abrigo, espaço físico, população residente, dinâmica ecológica da área e intervenção antrópica) considera a procedência, a área de ocorrência da espécie e a transferência para a região de origem quando não for espécie endêmica. Os animais inaptos para soltura são enviados a criadores (conservacionistas, científicos e/ou comercial) credenciados no Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – Ibama.

A manutenção de programas para a conservação de espécies em zoológicos é um trabalho minucioso para estabelecer planos específicos de manejo,cuja apresentação é obrigatória para espécies ameaçadas de extinção, abordando aspectos da alimentação – dieta balanceada de acordo com a espécie, estado fisiológico e hábito alimentar –, comportamento, reprodução, profilaxia, aspectos clínicos e sanitários.

Ressalta-se ainda a importância zoonótica dos zoológicos, principalmente em relação ao controle da fauna livre e da fauna visitante. Recomenda-se conhecer as populações da área, observar o equilíbrio dos ecossistemas e controlar a introdução de animais para que não funcionem como vetores de doenças.

Reabilitação

A reabilitação é um processo de readaptação ao ambiente natural que é possível apenas quando o animal é capaz de identificar alimento e de desenvolver comportamentos relacionados a reconhecimento e fuga ou defesa contra predadores naturais, bem como de formar parceiros reprodutivos. Tornou-se uma modalidade comum nos zoológicos por ter se tornado uma realidade diária a chegada de animais oriundos de diversas áreas vítimas do tráfico ou nascidos em cativeiro, mas que ainda apresentam condições para reintrodução.

Infelizmente, muitas vezes os animais chegam vítimas de maus tratos, acidentes domésticos ou atropelamentos, apresentando lesões significativas, como amputações, garras arrancadas, presas serradas, deformações em carapaças e estrutura óssea, crescimento retardado ou raquitismo por dieta alimentar inadequada e outras sequelas, o que os torna inaptos à soltura e os limita ao cativeiro.

Educação ambiental

Em 1999 a Lei n° 9.795, Lei da Educação Ambiental,normatizou essa prática no Brasil. Sua temática afirma que, por meio da prática continuada, multidisciplinar e integrada às diferenças regionais, é possível preservar e disseminar o conhecimento sobre o meio ambiente e usar de forma sustentável os recursos naturais.

As atividades dos zoos devem estar centradas nesse conceito de educação ambiental e ser dinamizadas em programações que envolvam exposições (fotografias, animais taxidermizados, coleções de insetos, etc.), atividades lúdicas e de sensibilização, visitas orientadas para conhecer o zoo e seu acervo (vegetal ou zoológico), palestras sobre a importância do zoológico na conservação das espécies, zooterapia para crianças e idosos portadores de deficiências físicas e mentais e contato com os animais de

forma educativa, como é possível em borboletários, onde se observam a biologia, o ciclo de vida, hábitos alimentares e a diversidade de espécies.

Os zoológicos são considerados laboratórios vivos e devem objetivar o conhecimento dos acervos em sistemas naturais, avaliando a intervenção antrópica e interagindo com a comunidade acadêmica, instituições de pesquisa e desenvolvimento e entidades de diversas esferas nas questões relativas ao meio ambiente para subsidiar propostas viáveis de manejo com base sustentável e contribuir para a melhoria das condições de vida das populações locais.

Bem-estar Animal

A preocupação das sociedades ocidentais pelo bem-estar dos animais cativos apareceu na Inglaterra no século 19. A produção industrial de proteína animal gerada pela urbanização provocou uma reflexão sobre ética e bem-estar animal (BEA), testemunhada pela publicação em 1975 do livro Libertação Animal (SINGER, 2004). As crises provenientes de problemas sanitários da agropecuária industrial como, por exemplo,as epidemias de encefalite espongiforme bovina e febre aftosa enfatizaram o interesse dos órgãos públicos, da sociedade civil e dos profissionais sobre BEA. A problemática foi incorporada ao domínio científico a partir dos anos 1980 (PAIXÃO; SCHRAMM, 1999).

Definição

Não existe consenso sobre uma definição do bem-estar animal, já que se considera que o conceito foi evoluindo com a transformação dos valores éticos em relação ao animal, bem como com o desenvolvimento dos conhecimentos científicos.

Segundo Duncan e Fraser (1997), todas as definições se encaixam em três categorias, privilegiando o estado afetivo do animal, o seu fun-

cionamento biológico ou as suas condições naturais de vida. Em função da categoria, a definição dá importância a critérios de BEA diferentes: conforto e ausência de dor; condições para permitir o crescimento, a reprodução e a alimentação adequada;e ambiente apropriado. Porém, existe uma definição amplamente usada pelos profissionais chamada de cinco liberdades (FAWC, 1993). Segundo essa definição, o animal cativo deve teoricamente estar livre de fome e sede; desconforto; dor, injúria ou doença; medo e estresse, para poder expressar um comportamento normal. Estimar o bem-estar de um animal resume-se em uma avaliação do seu estado físico e mental nas suas tentativas de se adaptar ao ambiente (BROOM, 1986).

Os criadores de fauna não são submetidos aos mesmos imperativos comerciais que o pecuarista, mas eles devem também buscar melhorar o bem-estar dos animais. Eles devem comprovar a adequação das suas instalações e do seu manejo para obter autorização de implantação do criatório junto ao Ibama. As exigências do Ibama para cada tipo de criatório e de fauna são descritas em diversas portarias disponíveis no site do instituto (http://www.ibama.gov.br/). O termo de BEA não aparece explicitamente nessas portarias, mas se encontra em diversas instruções normativas (ex.: 001/89-P, 03/2002, 114/06).

O pesquisador que deseja submeter um projeto com animais silvestres às principais agências de fomento deve obter o aval de uma comissão de ética no uso de animais (CEUA). Essas comissões se desenvolvem no Brasil desde os anos 1990 (PAIXÃO, 2004), visando um controle social acerca do uso de animais nas pesquisas.

Comportamentos indicadores de mal-estar

A busca de BEA é uma prioridade de todo aquele interessado em manter animais em cativeiro. Ele tenta evitar os comportamentos qualitativamente ou quantitativamente anômalos, tais como as estereotipias: os deslocamentos repetitivos de carnívoros, os balanceamentos de

primatas, os jogos de língua e as mastigações repetitivas de ungulados. Entre outros comportamentos anômalos, pode citar-se a coprofagia dos primatas, o arrancamento de penas pelos psitacídeos e o canibalismo.

O estresse acarretado pelas das más condições no cativeiro provoca eventualmente falta de apetite, super agressividade, masturbação frequente, alarme excessivo e distúrbios maternos, entre outros. Um mal - estar crônico pode levar a um estado apático, a uma doença psicossomática, levando inclusive a disfunções orgânicas, como alterações hormonais que podem provocar infertilidade, um cio silencioso ou pseudociese.

Esses comportamentos devem ser evitados não somente com animais expostos ao público, mas também pelo criador que deseja reproduzir animais em cativeiro ou efetuar solturas. Ressalta-se, ainda, que alguns desses comportamentos dificultam o manejo (ex.: hiperagressividade) e prejudicam a produtividade, podendo diminuir o ganho ponderal, a taxa de reprodução ou a qualidade dos produtos.

Melhorar o bem-estar do animal em cativeiro

Para melhorar o bem-estar de animais silvestres, é necessário conhecer a biologia da espécie no seu ambiente natural e, com base nesse conhecimento, oferecer ao animal cativo condições que lhe permitam apresentar o mais amplo painel de comportamentos típicos da espécie. As características ambientais do recinto devem aproximar-se das condições naturais (temperatura, higrometria, luz) e respeitar os ritmos biológicos da espécie. O recinto deve ter dimensão e equipamentos suficientes para permitir que os animais se exercitem e desenvolvam atividades típicas da espécie. Por exemplo, um tanque com água é aconselhável em recinto de caititus (*Tayassu tajacu*), já que eles estão em contato com a água no ambiente natural. Estruturas permitindo a locomoção em três dimensões são necessárias em recintos de primatas arborícolas. Não se trata de reproduzir o ambiente natural em cativeiro, mas de oferecer objetos e estruturas que permitam o animal expressar seus comportamentos naturais.

O mal-estar dos animais cativos pode ser eficientemente combatido utilizando-se diversas ferramentas de enriquecimento ambiental, as quais consistem em uma série de procedimentos que modificam o ambiente físico e social, melhorando a qualidade de vida dos animais por contemplar suas necessidades etológicas (BOERE, 2001).

A introdução de novos objetos e de congêneres no recinto – proporcionando o enriquecimento social – e a alteração do manejo alimentar aumentam a atividade locomotora e exploratória dos animais e diminuem os comportamentos estereotipados e agressivos. Existem inúmeros métodos e técnicas de enriquecimento ambiental para cada espécie, mas a sua implantação deve seguir um protocolo rigoroso para não provocar efeitos contrários aos procurados: a introdução de um objeto ou de um congênere novo é potencialmente uma fonte de estresse, além de poder representar danos à saúde e à integridade física do animal.

A ciência questiona cada vez mais a dicotomia entre o homem e o animal, porém o animal já é amplamente aceito como um ser senciente. Essa mudança de percepção da animalidade no ocidente traduz uma tendência profunda e durável, sugerindo que as exigências da sociedade sobre o bem-estar dos animais cativos não vá diminuir. Na interseção entre considerações éticas, avanços da biologia e da zootecnia, evolução da legislação e do comércio mundial, o BEA reflete as angústias e aspirações da nossa época.

Criadouros Conservacionistas

Trajetória do pensamento conservacionista no Brasil

Temas ligados à conservação da fauna ou da biodiversidade, mesmo que não utilizando essas denominações, são relativamente antigos no Brasil, como no caso do Decreto 24.645, de 10 de julho de 1934, o qual

tipificou como contravenção penal todo e qualquer mau trato praticado contra os animais em território brasileiro. Essa então foi a primeira vez que se legislou em proteção dos animais em nosso país. Mesmo que, nesse período, não constasse ainda na Constituição Federal referência ao termo fauna, apesar da competência exclusiva da União em legislar sobre caça e pesca e sua exploração.

Já em 1941, em seu artigo 64, a Lei das Contravenções Penais proibiu a crueldade contra os animais. Posteriormente, com a Lei n° 5.197/67 e as modificações dos seus artigos 27 e 28, os maus tratos praticados contra animais passaram à condição de crimes inafiançáveis.

Mais recentemente e com o advento de nossa Constituição de 1988, nossos legisladores passaram a adotar o termo fauna, assim como orientar e estender uma proteção maior a todos os animais do território nacional, como tentativa de resposta às ações predatórias que estavam colocando várias espécies em risco de extinção ou provocando perda de sua função ecológica.

Legislação atual e a criação da categoria de criadouros conservacionistas

O termo fauna, de uma forma geral, pode ser percebido também sob ótica constitucional, como a reunião das espécies animais de um determinado local ou região, excluindo-se o homem (BECHARA, 2003).

A fauna, em linhas gerais, pode ser classificada em silvestre e doméstica. Devemos apenas, para entender melhor essa questão, lembrar o fato de que silvestres e domésticas são as espécies, e não os indivíduos, ou seja, um animal de uma espécie considerada silvestre jamais pode ser considerado doméstico por ser aprisionado ou colocado em cativeiro; assim como um animal de uma espécie considerada domesticada pelo homem não pode ser considerada silvestre se for encontrada em liberdade (FIORILLO, 1996).

Compreender o conceito de fauna e saber diferenciar animais domésticos de silvestres é importante, para que se entenda que os animais domésticos também são protegidos pela Lei de Crimes Ambientais – Lei 9.605, de 12 de dezembro de 1998 –, assim como pela Constituição Federal, em seu artigo 225, parágrafo 1º, inciso VII, que tem como meta "proteger a fauna e a flora, vedadas na forma da lei as práticas que coloquem em risco sua função ecológica, provoquem a extinção de espécies ou submetam os animais à crueldade".

Já no caso de animais silvestres da fauna brasileira, eles, além de ter em sua proteção garantida pela lei, ainda possuem legislação específica para cada sistema de criação em que estejam envolvidos, sejam estes modelos de criação comercial, científica, conservacionista ou parques zoológicos.

A categoria de criadouro conservacionista foi criada pela portaria 139 do Ibama, de 29 de dezembro de 1993, tendo como principais características, ao contrário de parques zoológicos e criadouros comerciais, não poder comercializar animais criados ou cobrar ingressos. Seu sistema de criação deve ser voltado à conservação das espécies animais da fauna brasileira, e toda e qualquer visitação pública deve ter caráter didático voltado à educação ambiental.

Muitas são as similaridades entre a portaria 139,que regulamenta os criadouros conservacionistas, e as instruções normativas responsáveis pela regulamentação das diferentes categorias de criadouros de animais silvestres, principalmente a Portaria 118-N, de 15 de outubro de 1997, que normaliza o funcionamento de criadouros comerciais de animais silvestres. Esse fato ocorre porque, qualquer que seja a modalidade da criação, ela deve respeitar as condições mínimas de bem-estar animal e estar em consonância com a ideia de conservação da biodiversidade em nosso país. Por esse motivo, devemos destacar as principais diferenças entre as modalidades de criação regulamentadas no País:

a. Criação conservacionista

Como dito anteriormente, possui como maior meta a conservação de espécies de nossa fauna.

b. Criação científica

É criada para a realização de pesquisas científicas. Essa modalidade de criadouro pode ser implantada apenas por entidades oficiais, como universidades e centros de pesquisa, ou oficializadas pelo poder público, como ONGs.

c. Criação comercial

É criada com a finalidade de produção de carne, couro e outros subprodutos.

Para a implantação de qualquer modalidade de criadouro, sempre deverá ser submetido, por parte do interessado, um projeto à superintendência do Ibama responsável, por orientar a respeito dos procedimentos para a implantação.

Importância dos criadouros conservacionistas no Brasil

Atualmente, no País, grande parte dos animais apreendidos tem como destino criadouros conservacionistas, os quais são importantes no aspecto de reprodução e aumento de conhecimento sobre o correto manejo de espécies ameaçadas. Se forem melhorados os procedimentos na criação de cada espécie, pode-se então pensar em reintrodução de animais à natureza, como também a seleção de algumas espécies para criação comercial.

O desenvolvimento de técnicas de manejo ocorrido em criadouros conservacionistas também auxilia zoológicos no que tange à reprodução e manutenção de espécies. Enfim, podemos facilmente perceber que uma espécie criada em cativeiro dificilmente corre riscos de extinção, chegan-

do ao ponto de hoje podermos observar a manutenção em cativeiro de espécies extintas na natureza.

Os criadouros conservacionistas devem sempre trabalhar em total cooperação com o Ibama – maior órgão responsável pela conservação e proteção da fauna silvestre brasileira –,bem como atentar para o fato de que cada animal presente em um criadouro conservacionista,quer seja fruto de apreensão, excedente de centros de triagem ou nascido no próprio local, é patrimônio da União.

Criadouros Científicos

Legislação

A criação e manutenção de espécies silvestres da fauna brasileira para subsidiar pesquisas científicas são regulamentadas pelo Ibama, que dispõe de legislação específica para essa finalidade. Os criadouros científicos devem apresentar, entre outros requisitos, projeto específico de pesquisa para cada espécie mantida e ou criada, conforme o disposto na portaria N° 16, de 4 de março de 1994.

As pesquisas científicas que envolvam animais, incluindo os silvestres, estão sujeitas à legislação específica pertinente à experimentação animal e por isso devem obedecer às resoluções do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV (www.cfmv.org.br) e seguir as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – Cobea (www.cobea.org.br).

Conservação versus saúde pública: o modelo primata não humano

O Brasil é o país com o maior número de espécies e subespécies de primatas neotropicais. Em seu território, ocorrem 17 gêneros, 85 espé-

cies e 126 espécies e subespécies, das quais 76 são endêmicas, ou seja, sua ocorrência natural é exclusiva em território brasileiro (AURICCHIO, 1995; RYLANDS, et al., 1995; RYLANDS et al., 2000).

A constante destruição do meio ambiente, acompanhada pela redução do habitat natural dos primatas brasileiros, principalmente ocasionadas pelo desmatamento para a agricultura, pela urbanização desordenada das cidades, pela pressão da caça e pelo comércio clandestino da fauna e flora, trazem como consequências a aproximação do homem a áreas selvagens e a diminuição das populações de animais silvestres nessas áreas. Essa aproximação pode acarretar o contato das populações humanas com agentes infecciosos, o que não ocorreria naturalmente, e levar ao surgimento de doenças emergentes ou reemergentes.

Esse desequilíbrio exerce uma pressão sobre as populações selvagens, particularmente de primatas não humanos, que pode levar a uma diminuição dessas populações até níveis extremamente baixos. A diminuição de tamanho populacional pode ser causada por diversos fatores, entre eles a competição por território e alimentos e a baixa resistência imunológica causada pelo aumento do estresse, o que gera maior susceptibilidade a doenças.

Essa pressão sobre as populações selvagens afeta todo o ecossistema, com consequente aproximação entre diferentes hospedeiros de um mesmo agente infeccioso, aumento das populações de vetores e diminuição de sua fonte de alimentação. Esses fatores predispõem o aparecimento de epizootias.

Os primatas não humanos, além da importância para o meio ambiente, desempenham outro papel importante, que é o de servir como modelos biológicos nas pesquisas da área das ciências da saúde (VALLE, 2002).

Os primatas neotropicais são de grande importância biomédica em razão de sua ocorrência no ecossistema tropical da América Central e do

Sul, de sua grande diversidade e de sua proximidade filogenética com o homem (VALLE, 2007).

Algumas espécies não ameaçadas de primatas neotropicais criadas em cativeiro são amplamente utilizadas em pesquisas biomédicas e na área da reprodução, principalmente na América do Norte e Europa (VALLE, 2007). Os primatas brasileiros são amplamente utilizados desde os anos 1980 como modelos experimentais em neurociência, oftalmologia, xenotransplantes, câncer, genética, diversas zoonoses como tuberculose, leishmaniose, febre amarela e malária, servindo inclusive no desenvolvimento de vacinas contra essas e outras doenças (PIECZARKA, 1998; VALLE, 2002; CARVALHO et al., 2003; MANSFIELD, 2003).

As espécies neotropicais mais utilizadas são: sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*), mico de cheiro (*Saimiri sciureus*), macaco da noite (*Aotus* spp.) e macaco prego (*Cebus* spp.) (MITTERMEIER; COIMBRA-FILHO, 1983; PIECZARKA, 1998; VALLE, 2002; MANSFIELD, 2003). Porém, estudos com inúmeras outras espécies estão atualmente em andamento para verificação de seu potencial para uso em pesquisas biomédicas (PIECZARKA, 1998; VALLE, 2002).

No entanto, para a utilização rotineira de primatas neotropicais como modelos biológicos, assim como para a conservação de populações selvagens, há necessidade de mais estudos sobre a fisiologia dessas espécies, uma vez que as espécies de primatas neotropicais apresentam variações entre si e diferem marcadamente das espécies de primatas do Velho Mundo, que têm sido mais estudadas (VALLE, 2007).

O criatório científico deve ser autossuficiente na produção de animais para pesquisas biomédicas para que não afete o status das populações in situ. O desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas se constitui em ferramentas valiosas para a reprodução, tanto em vida livre como em cativeiro, e principalmente, para a manutenção da diversidade genética.

A utilização de tecnologias de reprodução assistida como ferramentas eficazes no manejo genético de populações de animais selvagens, ameaçados ou não, mantidos sob condições de cativeiro ou semicativeiro, tem sido defendida e incentivada dentro do contexto de um programa de conservação integrado (BALLOU, 1992; MORREL; HODGES, 1998; HOLT et al., 2003; HOWARD, et al., 2003).

Dessa forma, esse é mais um motivo para que busquemos meios para manter e reproduzir primatas neotropicais em cativeiro, pois colônias bem definidas e controladas, que sejam capazes de manter a variabilidade genética e sustentar as pesquisas, ajudarão à preservação e manutenção dessas espécies na natureza (VALLE, 2002).

Criadouros Comerciais

Para normalizar o funcionamento de criadouros de animais da fauna silvestre brasileira com fins econômicos e industriais, é necessário seguir a Portaria do Ibama de n° 118/97, de 15 de outubro de 1997, com exceção de alguns animais como peixes, invertebrados aquáticos, jacaré-do-pantanal (*Caiman crocodillus yacare*), tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*), tracajá (*Podocnemis unifilis*), insetos da Ordem Lepdoptera, que têm portarias específicas.

Para normalizar a comercialização de animais vivos e abatidos dos criadouros, é necessário seguir a Portaria do Ibama n° 117, de 15 de outubro de 1997.

Para a formação do plantel inicial, as matrizes e reprodutores deverão ser provenientes de estabelecimentos registrados no Ibama ou de captura na natureza, preferencialmente em locais onde as espécies estejam causando danos à agricultura, pecuária ou saúde pública.

Espécies potenciais para produção

As principais espécies de mamíferos de potencial produtivo são: 5.1.1. taiassuídeos : caititu (*Tayassu tajacu*) e queixada (*Tayassu pecari*); 5.1.2. capivara (*Hydrochoeris hydrochaeris*); 5.1.3. paca (*Agouti paca*) e cutia (*Dasyprocta* sp.)

Além dos mamíferos, existem ainda algumas espécies de peixes como o pirarucu (*Arapaima gigas)*, o tambaqui (*Colossoma macropomum)* e o tucunaré (*Cichla ocellaris e C. temensis);* répteis como o jacaré (*Caiman sp.*); e quelônios como a tartaruga – da - Amazônia (*Podocnemis expansa)*, o muçuã *(Kinosternon scorpioides)* e o jabuti *(Geochelone sp.)*. Com relação a aves, destaca-se a criação de ema (*Rhea americana*),os Psitacídeos e Passeriformes; esses últimos criados para abastecer o mercado de animais de estimação.

No Brasil existem alguns criatórios comerciais de espécies silvestres, com destaque para as regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, e também criatórios científicos em Mossoró, RN, Teresina, PI, Ilheús, BA e Belém, PA, que subsidiam dados para a comercialização e sustentabilidade da atividade produtiva.

Taiassuídeos: caititu (Tayassu tajacu) e queixada (Tayassu pecari)

Os Taiassuídeos são encontrados em todos os habitats existentes, desde o sudeste dos EUA à Argentina; a queixada é observada somente a partir do sul do México. Esses animais possuem hábitos migratórios e vivem em bandos de mais de 50 indivíduos. Os caititus são menores, pesando 15 kg a 25 kg, enquanto as queixadas atingem 25 kg a 49 kg de peso.

Os Taiassuídeos sofrem muita pressão da caça na Amazônia, em razão da apreciação da sua carne e a importância do couro no mercado

internacional (BODMER et al., 1994; DEUTSCH; PUGLIA, 1988). Na região da Transamazônica (Pará – Brasil), esse grupo foi identificado como os animais mais caçados (BONAUDO et al., 2000).

Existe uma demanda no mercado internacional (Itália, Alemanha e França) pela pele desses animais,que é processada para fabricação de artigos de luxo como calçados, luvas, casacos, carteiras e cintos. Esses produtos são, por sua vez, exportados principalmente para os Estados Unidos e o Japão (NOGUEIRA FILHO, 1999; NOGUEIRA FILHO; NOGUEIRA, 2004).

Na Embrapa Amazônia Oriental (Belém, PA), existe um criatório científico implantado em 1999, que desenvolve atividades de pesquisas juntamente com a Universidade Federal do Pará para dar subsídios (dados produtivos) a criatórios comerciais da espécie (Figura 1).

Fotos: Natália Inagaki de Albuquerque

Figura 1. Criatório científico de caititus da Embrapa Amazônia Oriental.

Os animais são mantidos em 12 baias de 21 m^2 e 36 m^2 e um piquete de 450 m^2; nesse ambiente, observaram-se os aspectos reprodutivos do plantel, que foram monitorados durante o período de setembro 1999 a abril de 2006. Os parâmetros reprodutivos observados foram: distribuição dos nascimentos, idade de parição, período de gestação, cio pós-parto, intervalo entre partos, tamanho da ninhada e proporção sexual (MAYOR et al., 2006).

Os dados de nutrição foram obtidos por meio de experimentos com rações alternativas substituindo parte do milho por torta de babaçu (*Orbignya phalerata*), com o objetivo de baratear o custo e não prejudicar o requerimento nutricional do animal (ALBUQUERQUE, 2006). Além dos dados de nutrição, foram analisados alguns parâmetros de carcaça como rendimento, as propriedades e o conteúdo de ácidos graxos da carne do animal (ALBUQUERQUE, 2006).

A alimentação básica dos Taiassuídeos no ambiente natural é composta de frutos, folhas, raízes e tubérculos (NOGUEIRA FILHO, 1999; SOWLS, 1997) e, em cativeiro, eles se adaptam facilmente a diferentes tipos de alimentos,tais como o milho,a mandioca, a banana, a abóbora e a ração comercial de suínos (NOGUEIRA FILHO, 1999). Esses animais também se adaptam a alimentos verdes como o pasto, o que barateia significativamente o custo de produção. Eles possuem um estômago subdividido em compartimentos e, em razão disso sugere-se que a sua fisiologia digestiva seja semelhante à de ruminantes. Esses animais têm um potencial para digerir a fibra alimentar semelhante ao que os bovinos possuem,em razão da existência de uma quantidade elevada de microrganismos no seu estômago que causam fermentação, sugerindo que esse animal utilize a energia de ácidos graxos voláteis (LANGER,1979; CARL; BROWN, 1983, 1985; CAVALCANTE FILHO et al., 1998).

Quanto à sanidade, realizou-se, no criatório da Embrapa Amazônia Oriental, pesquisa de endoparasitos com o objetivo de conhecer a flo-

ra parasitária mais comum nos animais. Além das parasitoses, também foram realizados diagnósticos sorológicos de zoonoses como a brucelose, leptospirose, tuberculose e febre aftosa, cujos resultados foram todos soro negativos ou com baixa titulação (SILVA et al., 2001). Também foram diagnosticadas com resultado negativo outras doenças como salmonelose, erisipela, parvovirose, pseudoraiva, influenza, circovírus tipo 2, síndrome respiratória e reprodutiva (MAYOR et al., 2006).

Albuquerque et al. (2004) detectaram as endoparasitoses como sendo o principal controle sanitário necessário para a manutenção do sistema de produção de caititus. A recomendação do trabalho para controle eficaz é que se realize a vermifugação dos animais de seis em seis meses. Quanto às ectoparasitoses, não há a necessidade de controle devido ao hábito comportamental dos animais de retirada dos ectoparasitas com os dentes.

Em Santa Izabel, PA, localiza-se o primeiro criatório comercial de caititus do Pará (Figura 2).

Fotos: Natália Inagaki de Albuquerque

Figura 2. Criatório comercial de caititus (*Tayassu tajacu*) de Santa Izabel-PA.

Capivaras (Hydrochoerus hydrochaeris)

Esse animal é considerado o maior roedor do mundo, quando adulto pode alcançar mais de 50 kg. Está distribuído geograficamente desde o canal do Panamá até a Argentina (OJASTI, 1971). É representado pelas espécies: *Hydrochoerus hydrochaeris* e *Hydrochoerus isthmus*, esta é de tamanho menor e cuja distribuição está restrita ao leste do Panamá e em áreas da costa norte da Colombia e Venezuela (MONES, 1973).

Na natureza, possuem hábitos gregários (AZCARATE et al., 1973) e habitam locais próximos à água, são considerados animais diurnos e herbívoros, porém, na estação seca, podem se alimentar de peixes (TREBBAU, 1980). Os aspectos que contribuem para a comercialização são os seguintes: (1) o rápido crescimento; (2) a necessidade de menos alimento, quando comparadas ao bovino; (3) a adaptabilidade ao ambiente, resistindo bem às doenças e mudanças climáticas; (4) a facilidade de controle no ambiente; e (5) a produção de baixo custo (TREBBAU, 1980).

A observação etológica dessa espécie também contribui de maneira positiva para a domesticação, pois esse animal costuma adaptar-se a presença humana (MURPHEY et al., 1985).

Na América Latina, a carne desse roedor é comercializada principalmente na Venezuela e Colômbia. Na Argentina, o couro é utilizado na fabricação de carteiras de bolso, cintos, jaquetas e em móveis. O óleo também é utilizado como medicamento na maioria das localidades sulamericanas (OJASTI, 1991).

Em poucos países, permite-se a caça dessa espécie. Na Venezuela, há um controle populacional e, somente com licença governamental, é liberado o abate de 30% dos animais dos grandes grupos silvestres, para comercialização em larga escala (OJASTI, 1991).

No Brasil, a capivara é criada legalmente em regime semi-intensivo e intensivo, sendo a carne comercializada para as principais cidades e

exportada para a Itália. A formação dos criatórios garante emprego e alimento para populações carentes, aumentando ainda a produtividade de pequenos investidores.

Paca (Agouti paca) e cutia (Dasyprocta)

A paca pode ser considerada um grande roedor, pois atinge até 12 kg (RENGIFO et al., 1996). Habita desde o México até a Argentina, é noturno e basicamente frugívoro (MATAMOROS, 1985). A cutia possui distribuição geográfica desde o México até a Argentina (EISENBERG, 1989). É um animal diurno e um roedor de médio porte, com média de 3 Kg (GARCIA et al., 2004).

Em alguns países da América Latina (Costa Rica, Panamá, Peru e México), já existem iniciativas de criação da paca em cativeiro, como alternativas de nutrição para a população rural (MATAMOROS, 1985; NACIONAL RESEARCH COUNCIL 1991; SMYTHE; BROWN DE LA GUANTI, 1995; RENGIFO et al . 1996) ou mesmo como uma nova iguaria nas regiões urbanas, como no caso do Estado de Minas Gerais (Brasil) (HOSKEN, 1999).

Essas duas espécies são facilmente manejáveis em cativeiro e seus parâmetros reprodutivos básicos já foram estudados, assim torna-se possível a aplicação de biotécnicas visando sua conservação. O laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal do Pará vem desenvolvendo pesquisas nos aspectos reprodutivos dessas duas espécies, com finalidade de conservação e principalmente comprovar e aplicar seu potencial econômico. No caso da cutia (*Dasyprocta*), já foram realizados amplos trabalhos tanto em fêmeas como em machos, como determinação de puberdade de machos e fêmeas, indução de superovulação e congelamento de embriões, histologia ovariana e quantificação folicular e estudos citogenéticos. Em paca (*Agouti paca*), restringiu-se aos estudos dos aspectos reprodutivos de fêmeas, tais como caracterização do ciclo estral através da colpocitologia, período gestacional, cio pós-parto, intervalo

entre partos e etc (FERREIRA et al., 2006; GUIMARÃES, 1993; GUIMARÃES, 2000; RAMOS, 2002).

Referências

ALBUQUERQUE, N. I. **Emprego do babaçu (*Orbignya phalerata*) como fonte energética para catetos (*Tayassu tajacu*).** 2006. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba.

ALBUQUERQUE, N. I.; GUIMARAES, D. A.; SILVA, J. V.; LE PENDU, Y.; HILMA, L. D. Nutrition and sanitary characteristics of collared peccary (*Tayassu tajacu*) for small producers in the Amazon region. In: SYMPOSIUM SUR L'UTILISATION DE LA FAUNE SAUVAGE, 6., 2004, Paris. **Resumenes...** Paris, 2004. p. 128-129.

AURICCHIO, P. **Primatas do Brasil**. São Paulo: Terra Brasilis, 1995. 168 p.

AZACARATE, T.; ALVAREZ, F.; BRAZA, F. Tendencias gregarias del capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en los Llanos de Venezuela. In: REUNIÓN IBEROAMERICANA DE ZOOLOGÍA DE VERTEBRADOS, 1.,1977, La Rabida. [**Anais**...]. La Rabida, 1977. 1980. p. 285-291.

BALLOU, J. D. Potential contribution of cryopreserved germ plasm to the preservation of genetic diversity and conservation of endangered species in captivity. **Cryobiology**, v. 29, p. 19-25, 1992.

BECHARA, E. **A Proteção da fauna sob a ótica constitucional.** 1. ed. São Paulo: Juarez de Oliveira, 2003. 208 p.

BODMER, R. E.; FANG, T. G.; MOYA I, L.; GILL, R. Managing wildlife to conserve amazonian forests: population biology and economic considerations of game hunting. **Biological Conservation**, v. 67, p. 29-35, 1994.

BOERE, V. Environmental enrichment for neotropical primates in captivity. **Ciência Rural**, v. 31, p. 543-551, 2001.

BONAUDO, T.; LE PENDU, Y.; ALBUQUERQUE, N . A caça de animais silvestres na rodovia transamazônica. In: IUFRO INTERNATIONAL SYMPOSIUM: Integrated management of neotropical rain forests by industries and communities, 2000, Belém. **Proceedings**...Belém, PA, 2000. p. 338-343.

BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v.142, p. 524-526, 1986.

CARL, G. R.; BROWN, R. B. Protein requirement of adult collared peccaries. **Journal of Wildlife Management**, v. 49, p. 351-355, 1985.

CARL, G. R.; BROWN, R. B. Protozoa in the forestomach of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Journal of Mammalogy**, v. 64, n. 4, p. 709, 1983.

CARVALHO, L. J. M.; ALVES, F. A.; OLIVEIRA, S. G.; VALLE, R. R.; FERNANDES, A. A. M.; MUNIZ, J. A. P. C.; DANIEL-RIBEIRO, C. T. Severe anemia affects both splenectomized and nonsplenectomized *Plasmodium falciparum*-infected *Aotus infulatus* monkeys. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 679-686, 2003.

CAVALCANTE FILHO, M. F.; MIGLINO, M. A.; MACHADO, G. V.; BEVILACQUA, E.; NEVES, W. C. Estudo comparativo sobre o suprimento arterial do estômago do queixada (*Tayassu pecari*) e do cateto (*Tayassu tajacu*) (Linnaeus, 1789). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 1, 1998.

DEUTSCH, L. A.; PUGLIA, L. R. R. **Os animais silvestres**: produção e manejo. Rio de Janeiro: Globo. 1988. p. 69-72.

DUNCAN, I. J. H.; FRASER. D. Understanding animal welfare. In: M. C. APPLEBY; HUGHES, B. O. (Org.). **Animal welfare**. Oxon: CAB International, 1997. p. 19-31.

EISENBERG, J. F. Order rodentia (rodents, rodentia). In: EISENBERG, J. F. (Ed.). **Mammals of the neotropics**. Chicago: University of Chicago, 1989. p. 329-418.

FAWC. **Report on priorities for research and development in farm animal welfare**. Tolworth: MAFF, 1993.

FERREIRA, A. C. S.; GUIMARÃES, D. A. A.; RAMOS, R. S. L.; OHASHI, O. M. Uso de biotecnologia no manejo reprodutivo de cutia e paca em cativeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, n. 43, 2006. Suplemento.

FIORILLO, C. A. P. **Direito ambiental e patrimônio genético.** Belo Horizonte: Del Rey, 1996. 285 p.

GARCIA, G. **The agouti (*Dasyprocta leporine, D. aguti*) booklet and producers' manual**. Trinidad and Tobago: Trinpad Direct Limited, 2004. 93 p.

GIBBONS, W. **How do ecologists sample harmlessly**. 2006. Disponível em: <http:// www.uga.edu/srel/ecoviews9-2-02.html>. Acesso em: 11 jun. 2007.

GUIMARÃES, D. A. de A. **Algumas características reprodutivas da cutia fêmea *Dasyprocta prymnolopha* (Wagler, 1831) criada em cativeiro**. 1993. 89 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Pará. Belém, PA.

GUIMARÃES, D. A.; ALBUQUERQUE, N. I. D.; LE PENDU, Y.; SILVA, J. V. D.; DIAS, H. L. T. Manejo reprodutivo e produtivo do caititu (*Tayassu tajacu*) em cativeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, n. 43, p. 1-5, 2006. Suplemento.

HILLIS, D.; MORITZ, C.; MABLE, B. **Molecular systematics**. 2nd ed. Sinauer: Associates Press, 1996. 655 p.

HOLT, W. V.; ABAIGAR, T.; WATSON, P. F.; WILDT, D. E. Genetic resource banks for species conservation. In: HOLT, W. V.; PICKARD, J. C.; RODGERS, D. E.; WILDT, D. E. (Ed.). **Reproductive science and integrated conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. p. 267-280.

HOSKEN, F. M. **Criação de pacas**. Cuiabá: SEBRAE/MT, 1999. 178 p.

HOWARD, J.; MARINARI, P. E.; WILDT, D. E. Black-footed ferret: model for assisted reproductive technologies contributing to in situ conservation. In: HOLT, W. V.; PICKARD, J. C.; RODGERS, D. E.; WILDT, D. E. (Ed.). **Reproductive science and integrated conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. p. 249-266.

HUNTER, M. L. **Fundamentals of conservation biology**. New Jersey: Blackwell Science Publishers, 1995. 482 p.

LANGER, P. Adaptational significance of the forestomach of the collared peccary, *Dicotyles tajacu (L. 1758*) (Mammalia: Artiodactyla). **Mammalia**, v. 43, n. 2, 1979.

MANSFIELD, K. Marmoset models commonly used in biomedical research. **Comparative Medicine**, v. 53, n. 4, p. 383-392, 2003.

MARTINEZ, R.; ALVAREZ, M.; ASCUNCE, M.; AVILA, I.; MUDRY, M. Assessing collection resources and preservation issues in Argentinean Museums: A Model Survey and Evaluation of New World Primate Collections. **Collections**, v. 1, n. 3, p. 275-292, 2005.

MATAMOROS, Y. Fauna: el tepezcuinte. **Biocenosis**, v.4, n. 5, p. 21-22, 1985.

MAYOR, P.; LE PENDU, Y.; GUIMARÃES, D. A. ; SILVA, J. V. D.; DIAS, H. L. T.; TELLO, M.; PEREIRA, W.; LÓPEZ-BÉJAR, M. ; JORI, F. A health evaluation in a colony of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Research in Veterinary Science**, p. 246-253, 2006.

MITTERMEIER, R. A.; COIMBRA-FILHO, A. F. Distribution and conservation of New World primate species used in biomedical research. In: HEARN, J. P. (Ed.). **Reproduction in new world primates**, Lancaster: MTP Press, 1983. p. 3-37.

MONES, A. Estudios sobre la familia Hydrochoeridae (Rodentia) - Introduccion e historia taxononomica. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 33, n. 2, p. 277-283, 1973.

MORREL, J. M.; HODGES, J. K. Cryopreservation of non-human primate sperm: priorities for future research. Review. **Animal Reproduction Science**, v. 53, n. 1-4, p. 43-63, 1998.

MURPHEY, R. M.; MARIANO, J. S.; DUARTE, F. A. M. Behavioral observations in capybara colony (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Animal Behaviour Science**, v. 14, p. 89-98, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Microlivestock:** little-known small animals with a promising economic future. Washington, D. C.: National Academy, 1991. 449 p.

NOGUEIRA FILHO, S. L. G. **Criação de cateto e queixada**. Viçosa, MG: CPT, 1999. 170 p.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C. Captive breeding programs as an alternative for wildlife conservation in Brazil. In: SILVINS, K. M.; BODMER, R.; FRAGOSO, J. M. V. (Ed.). **People and nature**: wildlife conservation in south and central America. New York: Columbia University Press, 2004. p. 171-190.

OJASTI, J. **El Chiguire**: defesa de la natureza, v. 3, p. 4-14, 1971.

OJASTI, J. Human exploitation of capybara. In: ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H. **Neotropical wildlife use and conservation**. Chicago: University of Chicago, 1991. p.236-252.

PAIXÃO, R. L. As comissões de ética no uso de animais. **Revista CFMV**, v. 10, n. 32, p. 13-20, 2004.

PAIXÃO, R. L.; SCHRAMM, F. R. Ética e experimentação animal: o que está em debate? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, n. suppl.1, p. s99-s110, 1999.

PIECZARKA, J. C. Biodiversidade de primatas da amazônia e seu uso em pesquisas médico-biológicas. **Projeto de pesquisa dirigida:** edital PPD 01/98. Belém, PA: Universidade Federal do Pará, 1998.

RAMOS, R. S. L. **Efeito de diferentes gonadotrofinas sobre a superovulação de cutias (*Dasyprocta* sp.) criadas em cativeiro.** 2002. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2002.

RENGIFO, M. E.; NAVARRO, D. T.; URRUNAGA, A. B.; VÁSQUEZ, W. F.; ASPAJO, F. V. **Tratado de cooperacion amazonica-secretaria pró tempore # 48**: crianza familiar del majaz o paca (a*gouti paca*) en la Amazonia. Lima: Mirigraf S.R.L., 1996. 45 p.

RYDER, O.; MACLAREN, A.; BRENNER, S.; ZANG, P.; BERSHNISKE, K. DNA banks for endangered animal species. **Science,** v. 288, n. 5464, p. 275-277, 2000.

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A.; RODRÍGUEZ-LUNA, E. A species list for the New World primates (platyrrhini): distribution by country, endemism and conservation status according to the Mace-Land system. **Neotropical Primates**, v. 3, p. 113-160, 1995.

RYLANDS, A. B.; SCHNEIDER, H.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, R. A.; GROVES, C. P.; RODRÍGUEZ-LUNA, E. An assessment of the diversity of new world primates. **Neotropical Primates**, v. 8, n. 2, p. 61-93, 2000.

SCHNEIDER, H.; ROSENBERG A. L. Molecules, morphology, and platyrrhine systematics. In: NORCONK, A. L.; ROSENBERG, P. A.; GARBER, P. A. (Ed.). **Adaptive radiations of neotropical primates.** New York: Plenum Press, 1996. p. 3-19.

SILVA, J. V.; DIAS, H. L.; ALBUQUERQUE, N. I.; NEGRÃO, A. M. G. Brucelose, leptospirose e tuberculose em caititu (*Tayassu tajacu*) criados em cativeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28., 2001, Salvador. **Resumos…** Salvador, 2001. p. 12-13.

SINGER, P. **Libertação animal**. Lugano: [s.n], 2004. 357 p.

SMYTHE, N.; BROWN DE LA GUANTI, O. **La domesticación de la paca (*agouti paca*)**: guía de conservación # 26. Roma: FAO, 1995. 95 p.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries**: their biology, management, and use. 2. ed. Tucson: University of Arizona Press, 1997.

TREBBAU, P. Some observation on the capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Der Zoologische Garten NF.**, v. 50, n. 1, p. 40-44, 1980.

VALLE, R. R. **Características físicas e morfológicas do sêmen de *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) mantidos em cativeiro**. 2002. 66 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo, SP. 2002.

VALLE, R. R. **Colheita, análise e criopreservação de sêmen de uma espécie modelo de primata neotropical, Sagui-de-Tufo-Branco (*Callithrix jacchus*).** 2007. 169 f. Tese (Doutorado)Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo. 2007.

WILDT, D.; PUKAZHENTHI, B.; BROWN, J.; MONFORT, S.; HOWARD, J.; ROTH, T. Spermatology for understanding, managing and conserving rare species. **Reproduction Fertility Development**, v. 7, p. 811-824, 1995.

16

Conservação e Manejo de Recursos Genéticos Aquícolas

Alexandre Wagner Silva Hilsdorf
Emiko Kawakami de Resende
Laura Helena Orfão

Motivos para Realizar a Conservação dos Recursos Genéticos Aquícolas

A conservação dos recursos genéticos de peixes neotropicais de valor econômico é uma questão preocupante, uma vez que essa prática vem sendo comprometida pela degradação ambiental e pela sobrepesca. No que diz respeito à sobrepesca, ela ocorre, principalmente, por causa da redução dos estoques pesqueiros ocasionada pela degradação ambiental e pela pesca de sobrevivência realizada pelas populações tradicionais que vivem dessa atividade. Como causas de redução populacional dessas espécies de peixes, podem ser citadas: (I) as construções de barragens para produção de energia elétrica, as quais quebram o ciclo natural reprodutivo, interrompendo a migração ascendente para reprodução e eliminando as áreas alagáveis necessárias para alimentação e abrigo de jovens e adultos; (II) a agricultura ou a pecuária, quando práticas inadequadas de conservação de solos causam contaminação, erosão e assoreamento dos rios bem como supressão de matas ciliares; e (III) as atividades industriais e urbanas, que causam igualmente assoreamento e contaminação da água,

fatores esses que já vêm acontecendo em grande escala nas regiões Sul e Sudeste.

O Pantanal, localizado na Região Centro-Oeste, é uma das regiões do Brasil que tem sofrido com essas modificações antrópicas. Nessa região, a maioria das espécies de peixe de valor econômico é migradora, e a degradação ambiental das cabeceiras, em razão da prática agrícola e pecuária, sem a observância às leis ambientais, vem crescendo a cada ano. Mapas de satélite da cabeceira do Rio Paraguai mostram extensas áreas desmatadas, o que demonstra o desrespeito ao código florestal, que considera como áreas de preservação permanente as matas ciliares ao longo dos rios. Esses desmatamentos desordenados e sem critério ameaçam os peixes, pois afetam a reprodução – por alteração na qualidade da água – e reduzem o alimento disponível proveniente das matas ciliares.

A Região Amazônica, considerada como origem da diversidade de peixes de água doce sulamericanos, começa a enfrentar problemas semelhantes pelo avanço da fronteira agrícola e dos empreendimentos de produção de hidroeletricidade. Nessa região, a questão torna-se mais grave, na medida em que os peixes constituem a fonte principal de proteínas às populações locais e muitas são dependentes da atividade de pesca para a sua sobrevivência.

A aquicultura, praticada de forma inadequada, seja pela realização de cruzamentos interespecíficos para produção de híbridos, nem sempre seguramente inférteis, seja pela introdução de espécies de peixes alóctones de outras bacias hidrográficas brasileiras ou mesmo espécies exóticas provenientes de outros países, seja ainda pelo estabelecimento de parasitas e doenças advindas do cultivo, vem contribuindo também para a degradação dos recursos genéticos nativos.

Até a presente data, as propostas de desenvolvimento industrial ou agropecuário foram incapazes de conciliar o uso dos recursos naturais com a manutenção e conservação de recursos aquícolas, exigindo, por

parte daqueles preocupados com a questão, novas formas de atuação. Em alguns casos, nos estados mais desenvolvidos, algumas empresas e organizações estão procurando recompor as populações de espécies de peixes ameaçadas.

A pesca como atividade extrativista ainda hoje é praticada por diversos países. Historicamente, diversas comunidades ao redor do mundo dependem da pesca em diferentes níveis, seja como fonte de emprego na indústria pesqueira ou mesmo praticando-a como forma de subsistência. A exploração extrativista dos recursos biológicos aquáticos é de certa forma realizada em meio a incertezas visto que variáveis ambientais e antrópicas são determinantes para a sustentabilidade em longo prazo da atividade. Os recursos pesqueiros em águas continentais são geralmente explorados por comunidades que vivem ao longo de rios, lagos e reservatórios. Em muitos casos, essas comunidades fazem da pesca sua única fonte de renda, sendo o pescado a base de sua alimentação.

A preservação recursos genéticos aquáticos para fins de produção de alimentos, no caso representado pela pesca e pela aquicultura, tem sido uma das principais preocupações principalmente no que se refere ao uso e os benefícios do compartilhamento dos recursos genéticos (BARTLEY et al., 2009). Nesse sentido, a comunidade internacional estabeleceu normas sobre o acesso e distribuição dos recursos genéticos (*Bonn Guidelines on Access and Benetif Sharing* – www.cbd.int/abs/regime.shtml). Muitas das preocupações sobre o compartilhamento e benefícios dos recursos genéticos advêm da agricultura e da pecuária. Contudo, a conservação e o manejo sustentado dos recursos genético aquícolas é fundamental tanto para a pesca continental como para o pescado produzido pela aqüicultura.

O pescado advindo da pesca e da aquicultura tem sido uma fonte importante de alimento e proteína. Em 2007, o consumo mundial de pescado foi de 115 milhões de toneladas com uma demanda crescente. Em média o pescado supriu três bilhões de pessoas com pelo menos 15%

da média de consumo de proteínas (FAO, 2010). De acordo com a FAO (2008), o peixe proveniente da captura em água doce atingiu um volume de 8.870,959 t, o que representou um acréscimo de 35,5% em relação ao total produzido em 2002. Já o peixe proveniente da aquicultura em águas continentais contribuiu com 28.750,512 t, um acréscimo de 45% do peixe produzido em cativeiro em 2002. Esses dados mostram a importância da aquicultura no suprimento de peixes de água doce para o uso direto como alimento e outros subprodutos.

O volume da pesca extrativista no Brasil ainda é dominado pela pesca marinha. Apesar de as estatísticas de produção pesqueira serem alvos de controvérsia, uma análise temporal da contribuição do peixe proveniente da pesca continental mostra sua importância no cenário nacional. Dados estatísticos do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) mostram que a pesca continental tem se mantido estável. Em 2004, a captura de peixes de água doce foi de 239.783,5 t, enquanto em 2007, a produção apresentou uma ligeira queda e ficou em 236.598,50 t.

Pode-se dizer que a pesca de água doce é uma atividade tradicional em algumas regiões do Brasil, sendo em muitos casos a única fonte de proteína disponível às populações ribeirinhas. A pesca em represas formadas para geração de energia elétrica e abastecimento também se tornou uma fonte de renda e sustento para alguns extratos populacionais (PETRERE JUNIOR et al., 2006). Além da pesca profissional, a pesca esportiva tem se transformado em uma das principais atividades de captura dos estoques de peixes de água doce no Brasil. De acordo com Petrere Junior (1995), a pesca continental no Brasil é praticada de forma intensiva na Bacia Amazônica, nos açudes nordestinos, na Bacia do Rio São Francisco, em rios da bacia do leste, como o Rio Paraíba do Sul, na Bacia do Paraná e no Pantanal.

A produção de peixes e outros organismos aquáticos em cativeiro é uma atividade em crescente expansão no Brasil. A produção de peixes em cativeiro, em 2004, foi de 179.737,50 t, tendo o total de peixes pro-

veniente de criação subido para 209.812,0 t em 2007, um acréscimo ao redor de 16% (IBAMA, 2007). As estimativas de produção em 2007 por espécies de peixes mostraram que, apesar da relevante ictiodiversidade presente no Brasil, as principais espécies utilizadas nos diferentes sistemas de criação são espécies introduzidas de outros países, tais como tilápia (*Oreochromis sp.*), carpa (*Cyprinus carpio*), trutas (*Oncorhynchus mykiss*) e bagres (*Clarias gariepinus* e *Ictalurus punctatus*) (Figura 1). Das espécies nativas das bacias hidrográficas brasileiras, o tambaqui é a espécie de maior produção (30.598,50 t) concentrada principalmente nas regiões norte e nordeste (IBAMA, 2007). Esses levantamentos mostram também que dois híbridos aparecem nas estatísticas de produção: o tambacu, cruzamento da fêmea do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com o macho do pacu (*Piaractus messopotamicus*), com uma produção de 10.854,00 t (5% do total); e a tambatinga, resultados do cruzamento da fêmea do tambaqui com o macho da pirapitinga amazônica (*Piaractus brachypomum*), com uma produção de 2.028,00 t (1% do total).

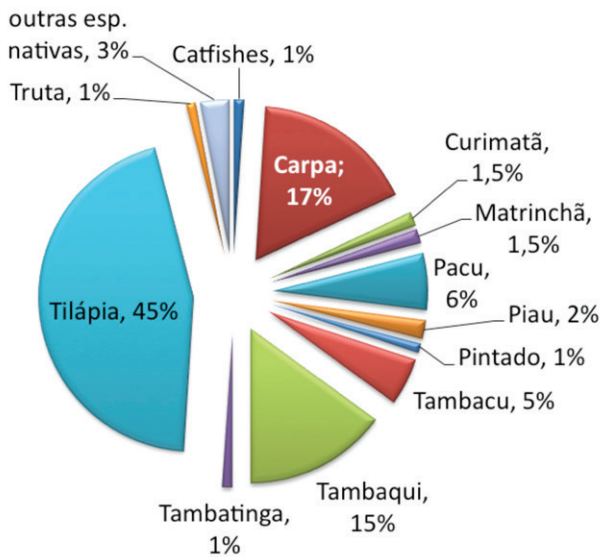


Figura 1. Principais espécies de peixes utilizadas pela piscicultura no no Brasil.
Fonte: Ibama, 2007.

A presença de híbridos na estatística de produção se por um lado mostra o bom resultado zootécnico do processo de hibridização como método de melhoramento genético entre espécies nativas de bacias hidrográficas na piscicultura nacional, por outro levanta sérias preocupações sobre o escape desses híbridos e sua introgressão genética com as populações selvagens (ALLENDORF et al., 2001; HASHIMOTO et al., 2010).

A importância dos recursos genéticos nos ambientes aquáticos

Os recursos genéticos aquáticos compreendem desde DNA, genes, gametas, populações de peixes selvagens e em cativeiro e suas formas geneticamente alteradas, tais como variedades melhoradas, híbridos, poliplóides e transgênicos. A perda ou diminuição desses recursos em ambientes aquáticos está entre os mais sérios problemas enfrentados dentro do contexto da conservação e uso da biodiversidade (MOYLE; LEID, 1992; FAO, 2011). A disponibilidade e importância dos recursos genéticos ictíicos pode ser constatada pelo fato de que mais da metade de todos os vertebrados viventes são peixes com cerca de 32.500 espécies, sendo 11.952 (40,5%) habitantes de ambientes de água doce (NELSON, 2006).

Apesar da grande importância econômica que os peixes representam para o homem, pouco se conhece sobre sua diversidade. De acordo com a lista vermelha de animais ameaçados produzidos pela IUCN, o número de espécies de peixes classificados em alguma categoria de ameaça em relação ao total de espécies descritas é hoje de 6% (1.851 espécies de um total de 31.800) (IUCN, 2011).

No Brasil, o livro vermelho das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção produzido pelo Ministério do Meio Ambiente relaciona 133 espécies de peixes em estado de vulnerabilidade ou em risco de extinção (MACHADO et al. 2008). Contudo, esse valor pode estar

grosseiramente subestimado, pois, de acordo com Nogueira et al. (2010), um total de 819 espécies de peixes de água doce com informações validas sobre sua distribuição são consideradas espécies de distribuição restrita e, devido ao estado de conservação das localidades de ocorrência, podem ser consideradas como potencialmente ameaçadas.

A diversidade biológica é fundamental para manutenção das espécies no que concerne à sua habilidade de adaptação e resposta às frequentes mudanças ambientais (BARKER; TINGEY, 1992). A perda da biodiversidade compromete o funcionamento dos ecossistemas, e a conservação de tais ecossistemas é de vital importância para vários setores econômicos em muitos países (EHRLICH; EHRLICH, 1992).

De acordo com Allan e Flecker (1993), vários têm sido os fatores identificados como causadores do declínio da diversidade de peixes nos diversos ecossistemas aquáticos do planeta. Fatores como industrialização, urbanização, destruição de florestas, barramento de rios para geração de energia elétrica, pesca predatória e introdução de espécies exóticas têm levado os recursos pesqueiros ao colapso pela destruição e fragmentação dos ambientes aquáticos. Em estudo realizado nos EUA por Miller et al., 1989, concluiu-se que a alteração física aos ecossistemas riparianos foi a causa mais comum de impacto sobre a ictiofauna (73%), seguida da introdução de espécies (68%), alteração química do ambiente (38%), hibridização (38%) e sobre-pesca (15%).

Vários são os exemplos da diminuição drástica ou mesmo desaparecimento de espécies de peixes comercialmente importantes em diferentes bacias hidrográficas no Brasil. Na Bacia Amazônica, os grandes bagres como a piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), a piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum*), e a dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), espécies de alto valor comercial, são alvos de uma captura considerada industrial devido à tecnologia e esforço de pesca empregado nos rios da região para a pesca dessas espécies. Nos anos 1970, o volume anual de captura dessas espécies atingiu 28 mil toneladas, sendo o desembarque

reduzido para cerca de 10 mil toneladas nos anos 1990 (BARTHEM; GOULDING, 1997).

"O rio Paraíba e seus afluentes são considerados um dos mais piscosos do Estado de São Paulo", essa afirmação está descrita em trabalho publicado em 1952 por Machado e Abreu, que destaca o importante núcleo de pescadores profissionais "Colônia Z-11 - Emílio Varoli", com sede em Pindamonhangaba e que, na década de 1950, entre profissionais e amadores, abrigava 745 pescadores. Dados de 1951 mostram que a produção pesqueira do Vale do Paraíba atingira 373.141 kg. Grande parte dessa produção (78%) era proveniente de peixes considerados de segunda, que, na sua maioria, são adaptados a ambientes lênticos. Espécies como a piabanha (*Brycon insignis*) e o surubim do Paraíba (*Steindachneridion parahybae*) foram registradas como comercialmente importantes no início da década de 1950, com uma pesca de 24 t e 1,1 t, respectivamente. Atualmente, populações selvagens dessas espécies não são mais registradas no trecho paulista da Bacia do Paraíba do Sul (MACHADO; ABREU, 1952). A pesca comercial no Vale do Paraíba deixou de representar o papel econômico que possuía há 50 anos. A redução da importância da pesca para as populações ribeirinhas pode ser verificada pela diminuição significativa do número de pescadores ligados à colônia Z-11 (HILSDORF; PETRERE JUNIOR, 2002).

Em 2006, o Sistema de Controle da Pesca de Mato Grosso do Sul (SCPESCA/MS) registrou que a quantidade de pescado capturado na Bacia do Alto Paraguai, MS pela pesca profissional (a partir de "pescado capturado") e esportiva foi de 291 t. Desse total, 166 t foram oriundos da pesca profissional (a partir de "estimativa de captura") e 125 t da pesca esportiva. Há, portanto, uma grande pressão de pesca sobre os recursos pesqueiros da região (CATELLA; ALBUQUERQUE et al., 2010). Os 132 rios que drenam a bacia do Pantanal abrigam 263 espécies de peixes que, além de seu papel ecológico, são de fundamental importância para pesca de subsistência, amadora ou esportiva e profissional artesa-

nal (CATELLA, 2003). Nas análises dos levantamentos realizados pelo SCPESCA/MS, de 1994 a 2006 (CATELLA; ALBUQUERQUE et al., 2010), pode ser constatado que a variação do volume de peixes capturados não está relacionada apenas à exploração dos estoques, mas é fortemente influenciada pelas novas políticas de uso dos recursos pesqueiros estabelecida pelo governo estadual do Mato Grosso do Sul que, segundo os autores, tem priorizado a pesca esportiva. A introdução de espécies exóticas de outras bacias, como o tucunaré e o tambaqui, ambas da Bacia Amazônica (MARQUES; RESENDE, 2005), e processos de degradação ambiental associados à erosão e assoreamento da planície (RESENDE; SANTOS, 2002) podem, em longo prazo, provocar desequilíbrios nos estoques de espécies nativas importantes para a pesca esportiva e amadora do Pantanal Mato-Grossense.

Com todas as restrições consideradas, a criação de peixes em cativeiro pode ser uma alternativa para abastecimento com proteína de qualidade à população, bem como para programas de lazer tipo pesque e pague, os quais estão cada vez mais desenvolvidos e sofisticados em diversos estados do Brasil, incluindo os do Centro-Oeste.

Um dos fatores restritivos para a criação de peixes em cativeiro é a obtenção de alevinos de qualidade e em quantidade suficientes para tender as necessidades do mercado. Por isso, o estudo de técnicas cada vez mais eficientes para reprodução artificial de espécies nativas se faz necessário. Entre essas técnicas, pode-se destacar a indução para a liberação sincronizada de gametas, seja por aplicação de hormônios ou de maneira natural, e as técnicas de manipulação e de conservação de sêmen, como o resfriamento e a criopreservação. A conservação de sêmen tem vantagens como a redução de custos na manutenção de estoques de reprodutores; a maior praticidade no momento da reprodução artificial, uma vez que somente a fêmea é manipulada; a eliminação de problemas de assincronia da maturidade gonadal entre machos e fêmeas; o armazenamento de material de estoques silvestres ameaçado de extinção; a

facilidade de troca de material genético entre laboratórios de reprodução sem risco de transmitir doenças. Além dessas vantagens, com a criopreservação, é possível assegurar a variabilidade para futuros programas de melhoramento genético e igualmente, considerando os riscos potenciais de redução da diversidade genética por degradação ambiental e sobrepesca, propiciar o armazenamento de sêmen de peixes para a conservação de sua diversidade genética.

A estratégia de estabelecimento de bancos ex situ vivo e (ou) criogênico, em curto prazo, pode assegurar a manutenção das populações de peixes de interesse, "comprando o tempo necessário" para melhorar as condições dos habitats para repovoamento. Entretanto, o repovoamento deverá ser efetivado, quando necessário, sob critérios específicos que considerem a fauna e a diversidade genética locais, conciliando as questões de sanidade e doenças. Esforços devem ser desenvolvidos para a conservação dos ambientes naturais de ocorrência dos peixes, pois essa medida é, de longe, a que melhor resultados propiciarão em termos de conservação dos recursos genéticos aquícolas.

Como é Feita a Conservação nos Dias de Hoje

A estratégia ideal para a conservação dos recursos genéticos aquícolas seria a conservação in situ, ou seja, com a manutenção dos habitats onde as espécies ocorrem, realizando a proteção e (ou) recuperação das condições necessárias para completarem o seu ciclo de vida. Em muitos casos, essa alternativa não existe ou é muito dispendiosa e requer muito tempo, na medida em que a restauração de habitats é um processo lento e longo. Uma alternativa é a conservação ex situ, a conservação fora do ambiente natural, com os organismos vivos ou bancos genéticos congelados em nitrogênio líquido. Bancos genéticos vivos (conservação ex situ) também são dispendiosos, requerem infraestrutura, tempo e pessoal qualificado para a manutenção dessas populações.

A conservação ex situ, em longo prazo, mesmo com as restrições citadas, pode ser melhorada com a conservação dos habitats e banco de germoplasma in situ (BART, 2000). No Brasil, a utilização de sêmen criopreservado de espécies animais ameaçadas em rotinas de laboratórios de reprodução é ainda limitada, embora as pesquisas desenvolvidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) por meio do Programa de Conservação de Recursos Genéticos Animais venham produzindo tecnologia para maximizar o uso da criopreservação, principalmente para espécies ameaçadas terrestres (EGITO et al., 2005).

Essa técnica requer investimento em equipamentos específicos e em mão de obra treinada. Além disso, os protocolos já desenvolvidos são espécie-específicos, e, muitas vezes, os resultados encontrados de viabilidade do sêmen após congelamento são muito heterogêneos. Falta padronização das etapas, desde o momento de indução da liberação espermática até o uso do sêmen após o descongelamento. Em uma revisão, Viveiros e Godinho (2009) mostraram que, de acordo com as publicações disponíveis, somente 0,7% de todas as espécies de peixes brasileiras teve algum aspecto da biologia dos espermatozoides descrito até aquele momento. E mais, 80% de todos os estudos publicados até então sobre biologia espermática e criopreservação de sêmen de peixes nativos foram publicados nos últimos 10 anos, mostrando o avanço da técnica nos últimos tempos e que ainda há muita pesquisa para ser feita.

Quando se trata de conservação de ovócitos e embriões de espécies nativas, os estudos são mais escassos ainda. Para congelar o embrião, é necessário conhecer o desenvolvimento embrionário para verificar qual o melhor momento para a vitrificação. Nos últimos anos, esses estudos estão sendo desenvolvidos para espécies nativas como: *Leporinus friderici* (SANCHES et al., 2001), *Leporinus piau* (BORÇATO, 2004), traíras (*Hoplerythrinus unitaeniatus*, *Hoplias lacerdae e Hoplias malabaricus*, (GOMES et al. 2007) e também para híbridos de *Pseudoplatystoma* spp. (FAUTINO et al., 2010), *Brycon cephalus* (ALEXANDRE et al., 2010)

entre outros. A criopreservação de embrião foi testada com *Prochilodus lineatus*, mas embriões viáveis ainda não foram obtidos (NINHAUS-SILVEIRA et al., 2009).

A manipulação de gametas e embriões será muito útil em estudos de conservação e melhoramento de espécies, como a possibilidade de androgenia, que são organismos diploides produzidos apenas com a carga genética masculina (BART, 2000).

No Brasil, as medidas de conservação da ictiofauna de água doce, de certa forma, surgiram com as primeiras leis de proteção às populações de peixes afetadas pela construção de barragens para produção de energia elétrica. Podemos considerar que a conservação ex situ de espécies de peixes foi estimulada pela preocupação com a diminuição dos estoques de peixes de interesse para pesca.

De todas as medidas para conservação da ictiofauna, a construção de escadas e o repovoamento têm sido as mais conhecidas e utilizadas (HILDEBRAND et al., 1980), embora a eficácia das escadas para os peixes migradores neotropicais ainda não esteja totalmente comprovada (PELICICE; AGOSTINHO, 2008). No Brasil, a primeira legislação referente à construção de escadas em barragen foi estabelecida pela Lei 2.250 de 28/12/1927 e regulamentada pelo Decreto 4.930 de 15/03/1928. Essa primeira lei estabelecia que "todos quantos, para qualquer fim, represarem as águas de rios, ribeirões e córregos são obrigados a construir escadas que permitam a livre subida dos peixes".

Em 1938, o Governo Federal editou o primeiro Código de Pesca no Brasil, com o Decreto-lei 794 de 19/10/1938, em que "As represas dos rios, ribeirões e córregos devem ter como complemento obrigatório, obras que permitam a conservação da fauna fluvial, seja facilitando a passagem de peixes, seja instalando estações de piscicultura". A Portaria 46 de 28/02/1967, da Superintendência do Desenvolvimento da Pesca – Sudepe (incorporada pelo Ibama) regulamentou o Artigo 36 do Decreto-

-lei 221 de 28/02/67, conhecido como "Lei da Pesca", o qual exige que: "o proprietário ou concessionário de represa em cursos de água, além de outras disposições legais, é obrigado a tomar medidas de proteção à fauna".

A Lei 6938 de 31/08/1981, que dispõe sobre a Política Nacional de Meio Ambiente e seus decretos-leis 88351 de 1983 e 99274 de 1990, tornou obrigatório o Relatório de Impacto Ambiental (Rima) que deve incluir estudos sobre a ictiofauna afetada pelo barramento, com a descrição das ações que devem ser tomadas para mitigar os impactos causados sobre as espécies de peixes residentes na bacia afetada.

Desde a década de 1970, várias empresas responsáveis pela construção de usinas hidrelétrica, como a Cesp em São Paulo, a Cemig em Minas Gerais, a Chesf no norte e nordeste e Furnas criaram Departamentos de Recursos Naturais com o objetivo de estabelecer medidas de proteção e conservação dos recursos ícticos com a construção de estações de piscicultura para programas de repovoamento.

O objetivo de cumprir cotas de repovoamento de espécies de interesse econômico e muitas vezes alóctones suscitou uma questão importante sobre os objetivos dos programas de repovoamento: a introdução de alevinos produzidos em cativeiro em reservatórios e tributários é uma medida eficaz para o incremento da produção de pescado e (ou) para conservação da ictiodiversidade?

Apesar das controvérsias acerca da eficácia dos programas de repovoamento (PHILIPPART, 1995), o estabelecimento de estações de piscicultura principalmente por parte das empresas geradoras de energia elétrica para produção de alevinos de espécies autóctones nas últimas décadas contribui para um melhor conhecimento biológico sobre várias espécies de peixes em diferentes bacias hidrográficas brasileiras.

Como exemplo, entre diferentes espécies nativas da Bacia do Paraíba do Sul, a estação de piscicultura da usina hidrelétrica de Paraibuna

em São Paulo, gerenciada pela Cesp, Centrais Energéticas de São Paulo, escolheu algumas que não são diretamente importantes para pesca. A pirapitinga-do-sul (*Brycon opalinus*) é uma dessas, cujos programas de repovoamento promovidos pela Cesp de Paraibuna tiveram seu início em 1984 com a introdução de alevinos na represa. Essa prática de repovoamento não obteve resultados satisfatórios já que não houve registros de captura da espécie em pescas experimentais e esportivas no corpo do reservatório (CESP, 1986). A partir de 1988, iniciou-se a introdução de alevinos de pirapitinga-do-sul em diversos rios contribuintes do reservatório. Muitos desses rios estão localizados nas áreas de cabeceiras e eram tributários dos rios Paraibuna e Paraitinga antes da formação do reservatório. A presença da pirapitinga-do-sul no Rio Paraibuna e em alguns de seus tributários não atingidos pelo enchimento do reservatório é um indicativo da presença anterior da espécie nos rios contribuintes do reservatório. Com a formação da represa de Paraibuna, as populações de pirapitinga-do-sul ficaram isoladas. Essa nova condição somada à intensa destruição ambiental levou ao desaparecimento de possíveis populações da pirapitinga-do-sul nesses rios. Estudos posteriores evidenciaram a presença entre os reprodutores de pirapitinga-do-sul de indivíduos provenientes de capturas realizadas em rios em que atualmente a espécie está extinta, bem como o sucesso da introdução de alevinos dessa espécie em rios e riachos próximos ao reservatório (GIRARDI et al., 1995; HILSDORF et. al., 2002).

Aspectos Importantes a Serem Considerados Neste Tipo de Conservação

A conservação genética e a proteção da diversidade genética são fundamentais para a sobrevivência das populações e espécies. Esses são pontos-chave da Convenção sobre Diversidade Biológica, desenvolvidos durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e De-

senvolvimento, realizada na cidade do Rio de Janeiro em 1992, a qual é muito clara acerca das prioridades e métodos de conservação genética. Estabelece que a conservação in situ, ou seja, a preservação das populações e espécies em seus habitats, deve receber prioridade sobre a conservação ex situ, onde populações, espécies, juvenis e gametas são conservados fora do seu ambiente natural (em parques, zoológicos, aquários, criadouros ou bancos genéticos).

Aqueles que acreditam fortemente na conservação in situ preocupam-se com a remoção de organismos ou gametas do seu local de origem, nas interrupções do processo evolutivo, na dependência de soluções tecnológicas para problemas ambientais e sobre o desvio das atenções e investimentos em corrigir problemas que ameaçam as populações em seus ambientes naturais. Entretanto, nem sempre é possível realizar conservação in situ tão rapidamente quanto seria desejável para salvar populações em risco severo de extinção. Os proponentes da conservação ex situ argumentam que suas coleções também são importantes para pesquisa e referência, bem como, no caso de bancos genéticos de sêmen congelado possam ser mais efetivos do ponto de vista de custos.

Diferente da conservação genética de plantas e animais terrestres, que tem sido foco de atenção há muito tempo, devido ao interesse no melhoramento para a agricultura, os programas de conservação de organismos aquáticos têm avançado mais como um meio de conservar a variabilidade genética natural ocorrente entre as populações. A manutenção dessa variabilidade genética é considerada crucial para a sobrevivência em longo prazo das espécies aquícolas bem como para a manutenção da atividade pesqueira. Entretanto, mesmo que o problema já tenha sido reconhecido há algum tempo e tecnologias de conservação genéticas tenham sido desenvolvidas, um grande número de populações de peixes já se encontra em níveis críticos, de forma que um programa agressivo de conservação genética torna-se imperativo.

Principais questões para conservação dos recursos genéticos aquicolas

A conservação ex situ, seguida de programas de reintrodução, não terá nenhum efeito em relação à sobrevivência das populações introduzidas se as condições in situ não estiverem adequadas para o pleno desenvolvimento dessas populações. Dessa forma, várias devem ser as ações que permitam manter a viabilidade das espécies em seu ambiente natural.

Quando o objetivo é manter as espécies de peixes de interesse para pesca e (ou) aquicultura em condições para seu uso sustentado, temos que ter em mente qual o nível da variabilidade genética de suas populações, pois as diferenças genéticas intra e interpopulacional são fundamentais na determinação de como uma dada população sobrevive e se reproduz em diferentes ambientes (DANZMANN et al., 1991).

O entendimento da estrutura genética populacional de uma dada espécie é um passo importante nesse processo, pois permite conhecer as diferenças genéticas geradas por processos vicariantes e suas relações com as diferenças adaptativas das populações (AVISE, 1994).

A fragilidade de uma determinada população está intimamente relacionada à sua variabilidade genética, isto é, nível de heterozigosidade e frequência alélica. Populações naturais geralmente apresentam níveis significativos de variabilidade genética (SOLE-CAVA; THORPE, 1991). Contudo, mecanismos indiretos relacionados às intervenções humanas sobre o meio ambiente aquático e direto sobre as populações acarretam a perda da variabilidade por processos de deriva genética que levam ao aumento da endogamia (SOLE-CAVA, 2001). Evidências sugerem que perdas mínimas de heterozigosidade podem reduzir a adaptabilidade, crescimento e desenvolvimento (ALLENDORF; LEARY, 1986).

O conhecimento da variabilidade genética das populações naturais é, dessa forma, um dos primeiros passos a serem tomados para o estabele-

cimento de políticas conservacionistas de espécies que estão sob algum tipo de pressão de captura. Assim como a conservação e a manutenção das plantas nativas que deram origem às variedades cultivadas são de importância estratégica para produção de alimentos na agricultura, a manutenção da variabilidade dos recursos genéticos das populações selvagens de peixes é fundamental para os programas de melhoramento genético de espécies que hoje são utilizadas pela piscicultura nacional (HOLTSMARK et al., 2008).

No caso da piscicultura de conservação em casos da redução da populacional, a reintrodução de alevinos objetiva contribuir e não substituir a população geneticamente adaptada àquele ambiente. Já, em casos em que a espécie desapareceu dos ambientes de sua ocorrência, a reintrodução deve ser realizada com a mais ampla representação genética que a espécie apresente. Dessa forma, a preocupação quanto à formação dos bancos de reprodutores deve ser precedido de um estudo sobre a distribuição da variabilidade genética da espécie em seus locais de ocorrência. Populações que habitem regiões diferentes de uma bacia, porém não apresentem diferenças genéticas significativas, poderão ser consideradas um mesmo recurso genético para fins de coleta e manutenção em cativeiro. A utilização de marcação dos reprodutores por marcadores eletrônicos também é de grande utilidade, pois animais provenientes de populações geneticamente diferentes podem ser mantidos em um mesmo local. Também, a utilização de sêmen criopreservado pode ser de grande valia no manejo dos reprodutores, podendo a estação de reprodução manter somente fêmeas e os semens de machos em tambores de nitrogênio líquido.

A manutenção em longo prazo de populações em cativeiro deve seguir planos de manejo genético e demográfico. Há diferenças em relação ao estabelecimento de estoques de reprodutores que conserve a máxima variabilidade genética se para reintrodução ou produção de carne e derivados.

No caso de estações de piscicultura de conservação, a formação dos estoques deve seguir algumas recomendações para assegurar o sucesso dos programas de repovoamento (TOLEDO et. al., 1992; FOOSE et. al., 1986):

- O estoque fundador deve ser formado a partir do estoque doador selvagem e não a partir de estoque não-nativo ou cultivado, pois as populações selvagens nativas e seus descendentes diretos apresentam maior potencial biológico para se adaptarem às condições de confinamento e certamente maior diversidade genética que estoques cultivados.

- O estoque fundador deve ser coletado na própria bacia hidrográfica e em várias localidades ao longo dos rios da bacia para assegurar a captura de exemplares não aparentados, após avaliação genética molecular das populações existentes.

- Recomenda-se um tamanho efetivo populacional (Ne) do estoque fundador maior do que 100, para a utilização de unidades reprodutivas na proporção sexual de 50 machos e 50 fêmeas. Se o Ne <100, utilizar no mínimo 25 machos para 25 fêmeas de forma a reduzir ao máximo os problemas relacionados à consanguinidade.

- A consanguinidade poderá ser minimizada evitando-se cruzar indivíduos relacionados geneticamente dentro de subpopulações.

- Diferentemente de reprodutores usados em programas de piscicultura para produção de carne, a seleção para caracteres como crescimento não deve ser usada para seleção dos reprodutores. A representatividade genética das populações deve ser preservada, pois indivíduos que não apresentem crescimento significativo podem carregar uma combinação de alelos importantes.

- O tamanho das famílias deve ser uniformizado para minimizar o processo de seleção natural e a deriva genética aleatória. A representatividade dos estoques de reprodutores deve ser ajustada de forma a representar a provável distribuição dos alelos existentes no estoque fundador.

- A introdução contínua de material genético selvagem, de novos estoques fundadores ao cativeiro, é importante para minimizar mudanças genéticas dos estoques reprodutores causadas pela seleção às condições de cativeiro.

No caso da utilização de espécies selvagens para formação de estoques de reprodutores com o objetivo de produção de progênies de desempenho superior, as medidas a serem seguidas também devem ser as mesmas no que concerne ao aumento da consangüinidade, bem como a implantação de programas de seleção genética que tem como base a variabilidade genética do plantel de reprodutores. Contudo, a manutenção de indivíduos em uma estação de piscicultura com o objetivo de repovoamento e o manejo a ser estabelecido devem seguir critérios próprios que se diferenciam daqueles de uma piscicultura para produção de peixes para alimentação. No caso de uma piscicultura de repovoamento, o critério principal é a manutenção da máxima variabilidade genética possível da espécie sem que os indivíduos sejam submetidos a programas de seleção. Aqui o que importa é o quanto a variabilidade genética da espécie está representada e não se os alevinos produzidos em cativeiros têm um desempenho zootécnico superior.

Uma das dificuldades em estabelecer um banco de sêmen de peixe criopreservado é a ausência de padronização da técnica. Muitos trabalhos vêm desenvolvendo essa técnica, contudo, testes com diferentes meios crioprotetores e taxas de congelamento e descongelamento dificultam a comparação de resultados para uma mesma espécie. Além disso, a avaliação dos protocolos não é feita de maneira uniforme, tornando difícil fazer comparações entre os trabalhos.

Para que a utilização de sêmen criopreservado seja eficiente, faz-se necessário que as centrais ou laboratórios onde os bancos de sêmen estejam armazenados participem de uma rede integrada de maneira que o sêmen de diferentes populações de peixes possa ser disponibilizado entre as diversas estações de reprodução de peixes que realizem programas de soltura. A formação de um banco de dados é essencial para uma efetiva utilização desta tecnologia na conservação dos recursos genéticos de peixes.

Para a conservação da diversidade genética, recomenda-se que seja mantido pelo menos sêmen de 50 exemplares de cada bacia hidrográfica. Uma espécie de ampla distribuição geográfica pode estar composta por várias populações geneticamente diferentes, evidenciando nesse caso a necessidade de 50 amostras de sêmen para cada uma das populações que componham a espécie. Se o objetivo do banco de sêmen for manter material com variabilidade genética de uma determinada espécie, é muito importante que a identificação das palhetas seja correta e de forma que facilite o manuseio.

Exemplos e Espécies Trabalhadas

Com o desenvolvimento de metodologias moleculares baseadas em marcadores genéticos do DNA nuclear e mitocondrial (HILSDORF et al., 2006; MARQUES, 2002), estudos sobre a distribuição da variabilidade genética intra e interpopulacional de espécies nativas das bacias brasileiras têm sido publicados nos últimos anos (OLIVEIRA et al., 2009).

Assim como na agricultura e pecuária, programas de melhoramento genético destas e de outras espécies da ictiofauna brasileira dependem de um melhor conhecimento e preservação dos recursos genéticos selvagens. A utilização de espécies com aptidão para produção em cativeiro ou mesmo o aumento da produtividade das espécies comumente em uso pela piscicultura nacional poderá diminuir a pressão sobre os estoques comerciais oriundo da pesca continental. Estudos indicam que 29% das

espécies usadas na pesca marinha estão economicamente inviáveis para pesca, o que representa um declínio de 90% na quantidade de peixes que estão sendo pescados no mar nos últimos 50 anos. Projeções indicam que, por volta de metade deste século, a pesca comercial nos mares entrará em colapso (WORM et al., 2006). Essas projeções em certa medida podem ser estendidas para espécies de água doce, muitas delas hoje extintas para pesca.

A formação de bancos de sêmen de peixes do Pantanal é um dos exemplos de ação na direção de promover a manutenção da diversidade genética de peixes de valor econômico para futuros programas de recomposição de estoques (hoje ameaçados pela degradação ambiental) e para programas de piscicultura com fins comerciais (RESENDE; MARQUES, 2009). Os bancos de sêmen devem ser implantados antes que as populações estejam em risco de extinção, a fim de assegurar que a diversidade genética daquela espécie esteja sendo coletada e conservada nos bancos genéticos.

Atualmente, existem protocolos eficientes de fertilização com sêmen após criopreservação para algumas espécies nativas (Tabela1). Quando se avalia a qualidade seminal pós-descongelamento pelas taxas de fertilização e eclosão, deve-se sempre verificar a qualidade dos ovócitos, fazendo a fertilização com sêmen fresco (controle).

A metodologia de criopreservação de sêmen de salmão utilizada no Canadá foi adaptada com êxito para os peixes migradores brasileiros das bacias do Paraná, Alto Paraguai e São Francisco. Essa adaptação permitiu que bancos de sêmen fossem constituídos. Para a Bacia do São Francisco, existem semens congelados de *Salminus brasiliensis* (dourado), *Conorynchos conirostris* (pirá) e *Pseudoplatystoma corruscans* (surubim). Para a Bacia do Alto Paraguai, onde está localizado o Pantanal, há bancos de sêmen de *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado), *Pseudoplatystoma fasciatum* (cachara), *Piaractus mesopotamicus* (pacu), *Salminus brasiliensis* (dourado) e *Brycon microlepis* (piraputanga), depositados na Embrapa Pantanal.

Tabela 1. Fertilização e eclosão com sêmen de algumas espécies após a criopreservação.

Espécie	Fertilidade (% controle)	Eclosão (% controle)
Brycon amazonicus	-	82
Brycon cephalus	-	59 - 69
Brycon opalinus	88	75
Brycon orbignyanus	-	-77
Colossoma macropomum	88	-
Leporinus macrocephalus	84 ± 9	-
Leporinus obtusidens	87	-
Piaractus mesopotamicus	39-95	77 - 91
Salminus brasiliensis	-	28 - 38

Fonte: adaptado de Viveiros e Godinho (2009).

Para os peixes do Rio Uruguai, existem semens congelados de *Salminus brasiliensis* (dourado), *Brycon orbignyanus* (piracanjuba), *Leporinus obtusidens* (piava), *Prochilodus lineatus* (curimbatá), *Steindachneridion scripta* (suruvi) *e Pseudoplatystoma corruscans* (pintado), provenientes do Rio Uruguai e depositados na Universidade Federal de Santa Catarina. Há amostras de populações selvagens e algumas F_1 nascidas em cativeiro de parentais selvagens nessa mesma universidade. Muito embora a maior diversidade de peixes de água doce esteja na Bacia Amazônica, não se conhece iniciativas de conservação de recursos genéticos para a região.

Um exemplo de manutenção de um estoque reprodutivo ex situ de algumas espécies de peixes vem sendo conduzido pela Companhia Energética de São Paulo (Cesp). Hoje a Cesp possui um plantel de indivíduos selvagens adquiridos pelo empenho dos técnicos da empresa na identificação dos locais de ocorrência e da colaboração de agentes da sociedade civil também preocupados com a preservação e de intercâmbios com entidades preservacionistas. Para a ampliação genética e numérica desse plantel, a Cesp desenvolveu o Projeto Formação de um Banco de Germo-

plasma da Ictiofauna Ameaçada da Bacia do Rio Paraíba do Sul[1], que mapeou a distribuição genética e populacional da pirapitinga-do-sul (*Brycon opalinus*), do surubim-do-paraíba (*Steindachneridion parahybae*), da piabanha (*Brycon insignis*). O projeto teve por objetivo resgatar na natureza o que ainda resta de variabilidade genética dessas espécies e propor uma metodologia de reintrodução baseada no conhecimento da distribuição genética das populações selvagens. Esses animais foram coletados em pontos de ocorrência de populações nativas e foi feita a captura dos indivíduos vivos para manutenção do banco genético vivo na Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna. Ao longo de todo o projeto, protocolos de criopreservação e estudos para o conhecimento da biologia do sêmen dessas três espécies foram desenvolvidos, buscando a formação de banco de sêmen dessas espécies em extinção.

Considerações Finais

O manejo dos recursos genéticos aquícolas deve levar em consideração uma abordagem ambiental para o desenvolvimento de uma aquicultura produtiva, mas ambientalmente responsável. A conservação dos recursos genéticos aquícolas é a base para a melhoria da produtividade de espécies nativas por programas de melhoramento genético. Já a manutenção de uma pesca sustentável depende também da conservação dos recursos genéticos, pois estes determinam a intensidade de captura em face das constantes mudanças ambientais a que as populações naturais são submetidas.

Em 1980, a Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO) e a United Nation Environment Programme (Unep) con-

[1] A Aneel, junto com a Cesp e a Faep, financiou esse projeto no âmbito do Programa de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Setor de Energia Elétrica regulado por essa agência.

vocaram uma consulta a especialistas sobre a conservação dos recursos genéticos de peixes (FAO/UNEP, 1980). Mais de duas décadas se passaram, mas as deliberações acordadas pelos especialistas ainda são atuais. Basicamente, recomendou-se que:

a. A conservação dos ecossistemas aquáticos e seu entorno é a medida primeira para conservação dos recursos genéticos.

b. A descrição da variabilidade genética das populações.

c. O estabelecimento de áreas protegidas para o restabelecimento de populações ameaçadas.

d. Desenvolver cuidados para prevenir contaminação das populações selvagens por espécies exóticas, híbridos e populações sob cultivo comercial.

e. O fortalecimento de programas de conscientização e educação ambiental sobre a importância dos recursos genéticos aquáticos.

Mais recentemente, no Código de Conduta para uma pesca responsável, há alguns artigos importantes de serem destacados no que se refere aos recursos genéticos aquáticos (ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/v9878e/v9878e00.pdf.):

Artigo 6.2

"O manejo pesqueiro deve promover a manutenção da qualidade, diversidade e disponibilidade dos recursos biológicos aquáticos em quantidades suficientes para as gerações presentes e futuras no contexto da seguridade alimentar, diminuição da pobreza e desenvolvimento sustentável. Medidas de manejo devem não somente assegurar a conservação de espécies alvos, mas também de espécies que pertençam ao mesmo ecossistema ou estarem associadas ou dependente das espécies alvos."

Artigo 7.2.2

"…biodiversidade de ambientes aquáticos e ecossistemas é conservado e espécies ameaçadas são protegidas..."

Artigo 9.1.2

"Os estados devem promover o desenvolvimento e o manejo responsável da aquicultura, incluindo uma avaliação antecipada dos efeitos da aquicultura sobre a diversidade genética e integridade dos ecossistemas, baseado na melhor informação científica disponível."

Artigo 9.3.1

"Estados devem conservar a diversidade genética e manter a integridade das comunidades aquáticas e dos ecossistemas por meio de um manejo adequado (principalmente para minimizar os impactos adversos de espécies não nativas e geneticamente modificadas)."

Artigo 9.3.3

Estados devem … encorajar a adoção de práticas adequadas de melhoramento genético de plantéis em aquicultura..."

Artigo 9.3.5

"Estados devem, onde for apropriado, promover pesquisa e, quando possível, o desenvolvimento de técnicas de cultivo para espécies ameaçadas para proteger, recuperar e aumentar os estoques, levando em consideração a necessidade urgente para conservar a diversidade genética de espécies ameaçadas."

Referências

ALEXANDRE, J. S.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERISSIMO-SILVEIRA, R.; BUZOLLO, H.; SENHORINI, J. A.; CHAGURI, M. P. Structural analysis of the embryonic development in *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Zygote,** v. 18, p. 173-183, 2010.

ALLAN, J. D.; FLECKER, A. S. Biodiversity conservation in running waters: identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems. **Biosicence,** v. 43, p. 32-43, 1993.

ALLENDORF, F. W.; LEARY, R. F. Heterozygosity and fitness in natural populations of animals, In: SOULÉ, M. E. (Ed.). **Conservation biology:** science of diversity. Sunderland: Sinauer Associates, 1986. p. 57-76.

ALLENDORF, F. W.; LEARY, R. F.; SPRUELL, P.; WENBURG, J. K. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. **Trends in Ecology & Evolution,** v. 16, p. 613-622, 2001.

AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history and evolution**. [S.l.]: Chapmam & Hall, 1994. 551 p.

BARKER, J. R.; TINGEY, D. T. **Air pollution effects on biodiversity**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 304 p.

BART, A. Conservation of fish genetic diversity: need for development of a cryogenic genebank in Bangladesh. In: WORKSHOP ON GENETIC MANAGEMENT AND IMPROVEMENT STRATEGIES FOR EXOTIC CARPS IN ASIA, 2002, Dhaka, Bangladesh. **Proceedings**... Bangladesh Fisheries Research Institute, Mymensingh, Bangladesh. 2002. p.107-110. Editores: D. J. Penman; M.G. Hussain; B. J. McAndrew; A. Mazid.

BART, A. N. New approaches in cryopreservation of fish embryos. In: TIERSCH, T. R.; MAZIK, P. M. (Ed.). **Cryopreservation in aquatic species**. Lousiania: World Aquaculture Society, Baton Rouge, 2000. p. 179-187.

BARTHEM, R.; GOULDING, M. **Rhe catfish connection**: ecology, migration and conservation of Amazonian predators. [S.l.]: Columbia University Press, 1997. 144 p.

BARTLEY, M. D.; NGUYEN, T. T. T.; HALWART, M.; DE SILVA, S. S. Use and exchange of aquatic genetic resources in aquaculture: information relevant to acess benefit sharing (editorial). **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 157-162, 2009.

BORÇATO, L. F.; BAZZOLI, N.; SATO, Y. Embriogenesis and larval ontogeny of the "piau-gordura", *Leporinus piau* (Fowler) (Pisces, Anostomidae) after induced spawning. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, p. 117-122, 2004.

BRASIL. Instrução Normativa nº 05, de 21 de maio de 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF. Ministério do Meio Ambiente, 2004. p. 136-142.

CATELLA, A. C. **A pesca no Pantanal Sul**: situação atual e perspectivas**.** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 43 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 48). Disponível em:< http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/on line/DOC 48>. Acesso em: 14 mar. 2001.

CATELLA, A. C.; ALBUQUERQUE, S. P. **Sistema de controle de pesca de Mato Grosso do Sul SCPESCA/MS-13:** 2006. Corumbá: Embrapa Pantanal; Campo Grande, MS: SEMA-IMAP, 2010. 50 p. (Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 100).

CESP. **Aspectos liminológicos, ictiológicos e pesqueiros de reservatórios da CESP no período de 1986 a 1994**. 1996. 78 p. (Série Pesquisa e Desenvolvimento, 136).

DANZMANN, R. G., IHSSEN, P. E., HERBERT, P. D. N. Genetic discrimination of wild and hatchery populations of brook char, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), in Ontario using mitochondrial DNA analysis. **Journal of Fish Biology**, v. 39, Supplement A, p. 69-77, 1991.

EGITO, A. A.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; CASTRO, S. T. R.; PAIVA, S. R.; MARQUES, J. R. F.; MCMANUS, C.; MARIANTE, A. S.; ABREU, U. P. G.; SANTOS, S. A.; SERENO, J. R.; FIORAVANTI, M. C. S.; VAZ, C. M.; NOBRE, F. V.; OLIVEIRA, J. V.; CARVALHO, J. H.; COSTA, M. R.; RIBEIRO, M. N.; LARA, M. A. Situação atual do banco de DNA de recursos genéticos animais no Brasil. **Archivos de Zootecnia,** v. 54, p. 283-288, 2005.

EHRLICH, P.; EHRLICH, A. The value of biodiversity. **Ambio**, v. 21, p. 219-226, 1992.

FAO yearbook. **Fishery and aquaculture statistics**. Rome: FAO, 2010. 72 p.

FAO. **Aquatic diversity**: underwater and unexplored, commission on genetic resources food and agriculture. Rome: FAO, 2011. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/nr/documents/CGRFA/factsheets_aquatic_en.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2001

FAO. **State of World Fishes and Aquaculture:** SOFIA. Roma: FAO Fisheries Department, 2010. p. 153.

FAUSTINO, F.; NAKAGHI, L. S. O.; MARQUES, C.; GANECO, L. N.; MAKINO, L. C. Structural and ultrastructural characterization of the embryonic development of *Pseudoplatystoma* spp. hybrids. **International Journal Development Biology,** v. 54, p. 723-730, 2010.

FOOSE, T. J.; LANDE, R.; FLESNESS, N. R.; RABB, G.; READ, B. Propagation plans. **Zoo Biology,** v. 5, p. 139-146, 1986.

GIRARDI, L.; SANTOS, P. P.; FARIA, C. A. Repovoamento com *Brycon cf. Reinhardt* (*pirapitinga-do-sul*) em tributários do reservatório da UHE Paraibuna/ Paraitinga, CESP, São Paulo. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, 11., 1995, Campinas. **Resumos**... Campinas: ICI: PUCCAMP, 1995.

GOMES, B. V. C.; SCARPELLII, R. S.; ARANTES, F. P.; SATO, Y.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. Comparative oocyte morphology and early development in three species of trahiras from the São Francisco River basin, Brazil. **Journal of fish Biology,** v. 70, p. 1412-1429, 2007.

GROOMBRIDGE, B. (Ed.). **IUCN red list of threatened animals, IUCN**. [S.l.]: Gland, 1993. 286 p.

GROSS, M. R. One species with two biologies: Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the wild and in aquaculture. **Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 55, suppl. 1, p. 131-144, 1998.

HASHIMOTO, D. T.; MENDONÇA, F. F.; SENHORINI, J. A.; BORTOLOZZI, J.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Identification of hybrids between neotropical fish leporinus macrocephalus and leporinus elongatus by PCR-RFLP and multiplex-PCR: tools for genetic monitoring in aquaculture. **Aquaculture**, v. 298, p. 346-349, 2010.

HILDEBRAND, S. G.; BELL, M. C.; RICHEY, E. P.; ANDERSON, J. J.; PARKHURST, B. E. **Analysis of environmental issues related to small-scale hydroelectric development II**: Design and consideration for passing fish upstream around dams: ORNT/TM-736, Environmental Services Division, OAK Ridge National Laboratory, 1980. 78 p.

HILSDORF, A. W. S.; ESPIN, A. M. A.; KRIEGER M. H.; KRIEGER, J. E. Mitochondrial DNA diversity in wild and captivity population of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconiae) in the Paraíba do Sul Basin, Brazil. **Aquaculture**, v. 214, p. 81-91, 2002.

HILSDORF, A. W. S.; PETRERE, JUNIOR, M. Peixes do rio Paraíba do Sul: Aspectos de sua diversidade e conservação. **Ciência Hoje**, v. 30, p. 62-65, 2002.

HILSDORF, A. W. S.; RESENDE, E. K DE; MARQUES, D. K. S. **Genética e conservação de estoques pesqueiros de águas continentais no Brasil**: situação atual e perspectivas. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. 43 p.

HOLTSMARK, M. G.; KLEMETSDAL, A. K.; SONESSON, J. A.; WOOLLIAMS. Establishing a base population for a breeding program in aquaculture, from multiple subpopulations, differentiated by genetic drift: II. Sensitivity to assumptions on the additive genetic relationships of base animals. **Aquaculture**, v. 274, p. 241-246, 2008.

IBAMA. Estatística da pesca: grandes regiões e unidades da federação: 2005 e 2007. Brasília, DF: IBAMA, 2007. 147 p. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/#info-estatistica>. Acesso em: 14 mar. 2001.

IUCN 2010. **IUCN red list of threatened species:** version 2010.4. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 14 mar. 2001.

MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A.P. (Ed.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2008. 1420 p. 2 v.

MACHADO, C. E.; ABREU, H. C. F. Notas preliminares sobre a caça e a pesca no estado de São Paulo: I, a pesca no Vale do Paraíba. **Boletim de Indústria Animal**, v. 13, p. 145-160, 1952.

MARQUES, D. K. S. **Aplicação da biologia molecular em programas de conservação de recursos pesqueiros**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 22 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 36).

MARQUES, D. K. S.; RESENDE, E. K. de. **Comunidades de peixes da RPPN SESC Pantanal.** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2005. 25 p. (Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 65).

MILLER, R. R.; WILLIAMS, J. D.; WILLIAMS, J. E. Extinctions of North American fishes during the past century. **Fisheries**, v. 14, p. 22-38, 1989.

MOYLE, P. B.; LEID, R. A. Loss of biodiversity in aquatic ecosystems: evidence from fish faunas. In: FIELDER, P. L., JAIN, S. K. (Ed.). **Conservation biology: the thory and practice of natural conservation, preservation and management.** New York: Chapman and Hall, 1992. p.127-169.

NELSON, J. S. **Fishes of the world.** 4. ed. New York: John Wiley and Sons, 2006. 601 p.

NINHAUS-SILVEIRA, A.; FORESTI, F.; AZEVEDO, A.; AGOSTINHO, C. A.; VERISSIMO-SILVEIRA, R., Cryogenic preservation of embryos of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiforme; Prochilodontidae). **Zygote**, v. 17, p. 45-55, 2009.

NOGUEIRA, C.; BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; OYAKAWA, O. T.; KASECKER, T. P.; NETO, M. B. R.; SILVA, J. M. C. **Restricted-range fishes**

and the conservation of brazilian freshwaters: PLoS ONE, v. 5, e11390. doi:10.1371/journal.pone.0011390, 2010.

OLIVEIRA, C.; F. FORESTI, F.; HILSDORF, A. W. S. Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. **Fish Physiology and Biochemestry**, v. 35, p. 81-100, 2009.

PELICICE, F. F.; AGOSTINHO, A. A. Fish passage facilities as ecological traps in large Neotropical rivers. **Conservation Biology,** v. 22, p.180-188, 2008.

PETRERE JUNIOR.; M.; WALTER, T.; MINTE-VERA, C. V. Income evaluation of small - scale fishers in two Brazilian urban reservoirs: represa billings (SP) and lago Paranoá (DF). **Brazilian Journal of Biology,** v. 66, p. 817-828, 2006.

PETRERE, JUNIOR, M. A pesca de água doce no Brasil. **Ciência Hoje**, v. 19, n. 110, p. 28-33, 1995.

PHILLIPART, J. C. Is captive breeding an effective solution for the preservation of endemic species. **Biological Conservation,** v. 72 p. 281-295, 1995.

PULLIN, R. S. V. Down-to-earth thoughts on conserving aquatic genetic diversity. NAGA. **The ICLARM Quartely**, v. 13, p. 5-8, 1990.

RESENDE, E. K. de; MARQUES, D. K. S. **Criopreservação de sêmen de peixe.** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2009. 5 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 84). Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=CT84>. Acesso em: 10 jan. 2011.

RESENDE, E. K. de; SANTOS, D. C. dos.. **Diagnóstico da pesca e aspectos da biologia reprodutiva dos peixes da bacia hidrográfica do rio Taquari, Mato Grosso do Sul, Brasil**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 22 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 22).

SANCHES, P. V.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SUIBERTO, M. R.; GOMES, F. D. C.; NAKATANI, K.; BARBOSA, N. D. de B. Caracterização do desenvolvimento inicial de *Leporinus friderici* (Osteichthyes, Anostomidae) da bacia do rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum,** v. 23, p. 383-389, 2001.

SOLÉ-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: MATIOLI, S.R. (Ed.)**. Biologia molecular e evolução.** Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p.172-192.

SOLÉ-CAVA, A. M.; THORPE, J. P. High levels of genetic variation in natural populations of marine lower invertebrates. **Biological Journal Linnean Society,** v. 44, p. 65-80, 1991.

TOLEDO F. S. de A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. de; FORESTI, F.; GALHARDO, E.; DONOLA, E. Conservação genética de peixes em

repovoamento de reservatórios, **Cadernos de Ictiogenética-USP**, v. 1, 39 p., 1992.

TORLONI, C. E. C.; GIRARDI, L.; NASCIMENTO, E. P. **Considerações sobre a utilização de escada para peixes e estações de aqüicultura na conservação da fauna ictíica no Estado de São Paulo**. 20. ed. São Paulo: CESP, 1986. 8 p. (Coleções Ecossistemas Aquáticos, 3).

VERMULM JUNIOR. H.; GIAMAS, M. T. D.; CAMPOS, E. C.; CAMARA, J. J. C.; BARBIERI, G. Levantamento da pesca profissional continental, no Estado de São Paulo, de 1994 a 2000. Dados preliminares, I. Bacia do Rio Paraná. **Séries Relatórios Técnicos,** v. 8, p. 1-11, 2002.

VIVEIROS, A. T. M.; GODINHO, H. P. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, p. 137-150, 2009.

WORM, B.; BARBIER, E. B.; BEAUMONT N.; EMMETT, D. J.; FOLKE. C.; HALPERN, B. S.; JACKSON, J. B. C.; LOTZE, H. K.; MICHELI, F; PALUMBI, S. R.; SALA, E.; SELKOE, K. A.; STACHOWICZ, J. J.; WATSON, R. Impacts of Biodiversity Loss on Ocean Ecosystem Services. **Science**, v. 314, p. 787-790, 2006.

17

Recursos Genéticos Microbianos

Sueli Corrêa Marques de Mello
Maria Elita Batista de Castro
João Batista Tavares da Silva

Introdução

Apesar de os microrganismos constituírem tão rico repertório da diversidade genética e metabólica na natureza, somente uma pequena fração, estimada em menos de 5% desses potenciais recursos genéticos, vem sendo adequadamente estudada e conservada em coleções de culturas. Constatação ainda mais surpreendente é o baixíssimo número de taxa microbiano como referência para aplicação biotecnológica: são algo em torno de 26, em aproximadamente 5.100 gêneros de fungos; 38 em 700 gêneros de bactérias, incluindo três gêneros de actinomicetes; e 23 em 60 gêneros de leveduras descritos, em uso para produção de alimentos, aditivos, enzimas e outros produtos (KOMAGATA, 1999).

Coleta, identificação, caracterização e conservação dos recursos genéticos microbianos são atividades de grande importância para a pesquisa (WETZEL; BUSTAMANTE, 2000). Especialmente no Brasil, essas atividades tornaram-se críticas e cruciais, considerando a marcante de-

ficiência desses recursos disponíveis, devido à tímida introdução e coleta de germoplasma, associada ao armazenamento inadequado. A não preservação dos microrganismos em coleções de culturas, além de limitar o desenvolvimento da pesquisa em diversas áreas, especialmente agropecuária e industrial, leva o país a depender de coleções mantidas por instituições estrangeiras, com custos elevados e nem sempre apropriadas às nossas condições.

Importante mencionar que a prospecção da biodiversidade, ou bioprospecção, incorpora um número considerável de indústrias que, dependendo da extensão de sua aplicação, inclui setores como fármacos, agricultura, cosméticos, alimentação e bebidas. Desse fato, surgem questões inéditas referentes ao uso sustentável de seus componentes e a divisão justa e igualitária dos benefícios proporcionados pelo uso dos recursos genéticos. Esse tema passou a ser tratado com grande interesse, a partir da Convenção da Biodiversidade (CDB), um acordo internacional resultante da Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e o Desenvolvimento, realizado no Rio de Janeiro, em junho de 1992. A CDB, cujo objetivo maior é manter o equilíbrio ecológico do planeta diante do desenvolvimento econômico, tem definido importantes marcos legais, configurando políticas que orientam a gestão da biodiversidade em todo o mundo, dessa forma, conciliando interesses distintos, em que se incluem, além da indústria, as instituições de pesquisa, as universidades, as populações rurais, as organizações não governamentais etc. Esse tema extrapola o universo das relações entre atores diretamente envolvidos em atividades de bioprospecção nacional ou internacional, haja vista que a bioprospecção suscita opiniões por vezes conflitantes: ao mesmo tempo em que representa oportunidade geradora sustentável de renda para populações locais e possibilidade de acesso a fontes financiadoras da conservação da biodiversidade, está sujeita à imputação de mecanismo de biopirataria, que deve ser coibida.

Diversidade Microbiana e sua Distribuição Sistemática

A diversidade microbiana diz respeito a organismos de ambos os tipos celulares básicos: procarióticas, da palavra grega pro (ante) e karyon (núcleo), e eucarióticas, de eu (verdadeiro) e karyon (núcleo). A diferença mais marcante entre os dois tipos é que as células procarióticas não possuem núcleo e outras estruturas contidas em membrana, enquanto as eucarióticas possuem essas estruturas. Todos os organismos procariontes são unicelulares, a maioria deles medindo de 0,5 μm a 2,0 μm de diâmetro, como exemplificado pelas bactérias. Os eucariontes, por sua vez, possuem células maiores, de organização mais complexa, estas constituindo a unidade estrutural básica de todos os organismos dos reinos Protista, Plantae, Fungi e Animalia. Eles incluem os protozoários, as algas e os fungos microscópicos e, desse modo, são considerados na microbiologia (BLACK, 2002).

Na ciência moderna, a sistemática ocupa-se da classificação dos organismos, enquanto a taxonomia estuda os princípios gerais da sistemática. Dar nomes e produzir esquemas de classificação para os organismos vivos sempre foi uma preocupação dos cientistas que se ocupavam da História Natural. Especialmente, a partir do século 16, com a descoberta de novos continentes, onde foram encontradas formas de vida até então desconhecidas, lançaram-se novos e contínuos desafios para os sistemas de classificação. Lineu (1707-1778) introduziu o sistema de classificação binomial, no qual se baseia a classificação atual dos organismos, muito embora esta tenha sofrido várias modificações até então, procurando refletir as relações filogenéticas entre as espécies.

A descoberta dos primeiros microrganismos deve-se às observações de Antonie van Leeuwenhoek, no século 17, um aficionado na arte de fazer lentes e olhar através delas. Após sua morte, a microbiologia pouco progrediu, durante dois séculos. Assim, atividades e funções mi-

crobianas só se tornaram evidentes a partir de 1857 com os estudos de fermentação lática desenvolvidos por Louis Pasteur e sobre o anthrax, por Robert Koch, em 1876. Já a importância dos microrganismos na agricultura vem sendo reconhecida desde o isolamento e identificação de rizóbio por Berjerinck, em 1888. Portanto, os avanços na microbiologia originaram-se de estudos da fermentação, doenças dos animais e humanas e agricultura.

Ainda, no século 17, os organismos vivos foram separados em três grupos – plantas, animais e protistas –, este último englobando os organismos primitivos. Como naquele tempo não existia o conceito de microrganismos no senso moderno, estes foram dispersos nos grupos plantas e protistas. Ao longo dos anos, os organismos procarióticos e eucarióticos foram sendo distinguidos com base na anatomia celular, surgindo o conceito de bacterium como organismo procariótico. O sistema de cinco reinos (plantas, animais, fungos, protistas e monera), proposto por Whittaker (1969), distribuiu os microrganismos nos grupos monera, protistas, fungos e, uma parte, no grupo das plantas. Estudos das relações evolucionárias, com base nas sequências de RNA ribossômico e outros dados gerados pelas técnicas moleculares, trouxeram novas perspectivas para as clássicas divisões do mundo vivo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O sequenciamento das bases da molécula ou de parte dela possibilitou comparações entre diferentes organismos e a construção de árvores filogenéticas universais, englobando os principais grupos de procariotos (Archaea e Bacteria) e eucariotos (Eucarya). Esses estudos revelaram os procariotos como um grupo altamente polifilético, resultante da grande diversidade evolutiva, de 3,5 bilhões de anos. Mais ainda, Archaea e Bacteria apresentam diversidade filogenética muito maior do que a existente entre os dois grupos representados por plantas e animais, justificando-se, assim, seu tratamento como *taxa* distintos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Dessa forma, estabeleceu-se o conceito de domínio superior a reino, propondo-se dois super-reinos (ou domínios) distintos

em procariotos: Archaea e Bacteria (WOESE, 1987). Portanto, no senso moderno, microrganismos podem ser considerados uma diversidade de seres vivos evolucionariamente distintos, compreendendo: bactérias, actinomicetos e cianobactéria, no domínio Bacteria; metanogenes, organismos extremamente termofílicos, organismos extremamente halofílicos e outros, no domínio Archaea; fungos filamentosos, leveduras, algas e protozoários, no domínio Eucarya.

Não se tem conhecimento de nenhuma Archaea causadora de doença, residindo sua importância na ecologia do planeta, especialmente nos ambientes extremos (como em fontes hidrotermais e em águas profundas) e no número de enzimas de extremofílicas com aplicações industriais.

Bactéria

Filogeneticamente, as espécies bacterianas são definidas pela determinação das relações evolutivas, por meio do estudo das sequências de genes conservados, especialmente o RNA do ribossomo 16S e homologia de DNA dos organismos. Embora tratadas como um grupo monofilético, há divergência entre autores. A despeito disso, para efeito de classificação, as bactérias constituem um único reino dividido em filos ou divisões (BLACK, 2002).

Além da análise genética e molecular, modernamente usadas, há vários outros critérios tradicionais de classificação: características culturais, forma, tamanho e arranjo das células, presença de estruturas específicas, tais como flagelos, endosporos ou cápsulas, reações de coloração (especialmente a coloração de Gram), exigências nutricionais, fisiologia e bioquímica. Todos esses critérios, utilizados conjuntamente, auxiliam a identificar uma cepa de bactéria como pertencente à determinada espécie. Uma cepa bacteriana é formada por descendentes de um isolamento obtido em cultura pura. A cepa-tipo, portadora do nome da espécie, é necessariamente armazenada em uma ou mais coleções de cultura-tipo.

Os Manuais Bergey, desde sua primeira edição em 1923 (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology), tornaram-se referência internacionalmente aceita para taxonomia de bactérias. Em 1984 foi publicada a primeira edição de um novo manual (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) e, desde então, mais de 2.200 novas espécies e 390 novos gêneros já foram descritos. Este manual, cuja segunda edição foi publicada em 1992, em quatro volumes, traz informações clássicas e moleculares de todas as espécies procarióticas reconhecidas por autoridades mundiais.

Vírus

Os vírus constituem um grande grupo de parasitas intracelulares obrigatórios, capazes de se replicar em uma variedade de diferentes tipos celulares. Os seres vivos em geral são suscetíveis a vírus, e esse parasitismo por vírus causa inúmeras doenças que podem resultar em morte precoce de seu hospedeiro. Em recente revisão de taxonomia de vírus (*Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* - ICTV) (FAUQUET et *al.*, 2005), foi proposta uma definição formal para *virus species*, sendo mais recentemente expandida como uma "classe de vírus que constitui uma linhagem replicativa e ocupa um particular nicho ecológico" (GIBBS; GIBBS, 2006). São agentes muito pequenos, sem estrutura celular, com genoma contendo um só tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA, podendo ser de fita simples ou dupla. Circundando e protegendo o genoma, eles possuem uma capa proteica, o capsídeo, disposta em uma ou várias possíveis morfologias. No caso de vírus providos de membrana, observa-se uma adicional bicamada fosfolipídica derivada de uma célula hospedeira.

Entre os vírus de invertebrados, destacam-se os baculovírus, por serem agentes biológicos de alto potencial para agricultura, e, mais recentemente, ferramentas de grande aplicabilidade nas distintas áreas da biotecnologia agrícola, médica, farmacêutica e industrial. Outra razão que

pode ser citada é o fato de serem excelentes modelos para estudar a biologia de vírus com grandes DNAs de dupla fita, que incluem também as famílias Poxviridae, Herpesviridae e Nimaviridae (MARKS et al., 2003).

Os baculovírus constituem o maior grupo de vírus patogênico a insetos, tendo já descritas mais de 600 espécies predominantemente da ordem Lepidoptera. Alguns baculovírus também têm sido identificados em outras ordens de insetos tais como Hymenoptera, Diptera e Decapoda (camarão). Não há registro de baculovírus replicarem em mamíferos ou outras células de animais vertebrados (FEDERICI, 1997).

A família Baculoviridae está subdividida em dois gêneros baseada principalmente na morfologia dos corpos de oclusão (OB) e nos mecanismos de envelopamento dos nucleocapsídeos nas células infectadas (THEILMANN et al., 2005). O gênero *Nucleopolyhedrovirus* (NPV) é caracterizado por vírus que formam OB poliédricos, variando entre 0,15 μm e 15 μm, contendo vários vírions em seu interior, enquanto os vírus do gênero *Granulovirus* (GV) produzem OB ovoides chamados de grânulos, com tamanho aproximado de 0,3 μm x 0,5 μm, contendo somente um, ou, raramente, dois ou mais vírions. Os NPV podem também ser encontrados contendo um nucleocapsídeo ("single" SNPV) ou vários nucleocapsídeos ("multiple" MNPV) por envelope. A principal proteína da matriz do corpo de oclusão dos baculovírus pode variar de 25 kDa a 33 kDa e é chamada de poliedrina para os NPV e granulina para os GV. Os genes que codificam essas proteínas são bastante conservados entre os baculovírus, sendo possível estabelecer a filogenia molecular desses vírus pelo alinhamento de suas sequências. Filogenias baseadas no conteúdo de genes e no ordenamento de genomas evidenciaram uma subdivisão dos NPV em dois grupos distintos: Grupo I e Grupo II (ZANOTTO et al., 1993; HERNIOU et al., 2003).

O genoma dos baculovírus caracteriza-se por uma molécula de DNA dupla fita circular com o tamanho variando de 80 Kb a 180 kb, podendo codificar de 100 a 200 proteínas (THEILMANN et al., 2005).

Durante o ciclo de vida dos baculovírus, duas partículas infecciosas são formadas: vírions derivados de corpos de oclusão – ODV (*occlusion derived virions*) e vírions extracelulares – BV (*budded virus*). A produção de partículas BV ocorre essencialmente durante a fase tardia e é responsável pela infecção sistêmica no hospedeiro, e a de OB ocorre durante a fase mais tardia da expressão gênica e é responsável pela transmissão da doença de inseto para inseto (GRANADOS; WILLIAMS,1986; THEILMANN et al., 2005). Essa forma viral (OB) possui uma matriz cristalina formada pela proteína poliedrina, nos NPV, e granulina, nos GV, que protege o vírus tornando-o estável no meio ambiente, podendo manter-se infectivo por vários anos.

Fungos

Os fungos representam um grupo heterogêneo, formado por diversos organismos unicelulares ou pluricelulares que se alimentam da absorção direta de nutrientes. Os alimentos dissolvem-se por causa das enzimas que eles secretam e, em seguida, são absorvidos através da fina parede da célula e se distribuem por difusão simples no protoplasma (http://cienciasecia.vilabol.uol.com.br/fungos.htm). Esses organismos vivem como saprófitas, parasitas ou simbiontes.

Os conceitos taxonômicos e as formas de classificação dos fungos têm sofrido grandes modificações nos últimos anos, a partir da incorporação de novas técnicas da genética e da biologia molecular empregadas na análise genômica e molecular, além de outras envolvendo análises de proteínas e açúcares, à ciência taxonômica.

O *Dictionary of the Fungi* cobre todos os organismos tradicionalmente estudados pelos micologistas, incluindo liquens, agentes de bolores, cogumelos e leveduras, constituindo, assim, a principal referência internacional para todos aqueles que trabalham com fungos. Em suas oitava e nona edições (KIRK, 2001), esses organismos estão distribuídos em três reinos: Protozoa, Chromista e Fungi. Nesse último, encontram-se

os fungos verdadeiros (eucariontes miceliais, contendo parede celular com quitina), abrangendo quatro filos: Ascomycota (classe Ascomycetes), Basidiomycota (classes Teliomycetes, Ustomycetes e Basidiomycetes), Chytridiomycota (classe Chytridiomycetes) e Zygomycota (classes Zygomycetes e Trichomycetes). Essa classificação é baseada nas fases sexuadas (teleomórficas).

Os "Deuteromycetes" são caracterizados pelas fases assexuadas (anamórficas) dos fungos, também denominados fungos mitospóricos ou imperfeitos, não representando uma classificação formal. A maioria apresenta o teleomorfo em Ascomycetes, porém alguns têm afinidades com Basidiomycetes. Para muitos deles, os teleomorfos são desconhecidos e, para outros, não foram ainda descritos ou reconhecidos. Há ainda aqueles que aparentemente perderam a função sexual, em alguns casos, recuperada por mecanismos tais como o ciclo parassexual. Entretanto, a taxonomia dos deuteromicetos, embora artificial, torna-se necessária para uma identificação prática de organismos importantes (KIRK, 2001); a despeito das confusões que podem ser geradas quando as fases sexuadas e assexuadas de um mesmo genótipo são classificadas como espécies distintas.

A taxonomia clássica utiliza, para identificação de espécies, as características morfológicas, especialmente as das estruturas reprodutivas. Para tanto, são obtidas culturas puras dos isolados, utilizando meios e condições de cultivo (iluminação, temperatura etc.) que devem ser ajustados para cada organismo. As preparações para exame microscópico devem ser realizadas cuidadosamente de forma a manter intactas as estruturas, e ser adequadamente coradas. A caracterização pode ser complementada com análises bioquímicas e fisiológicas.

Modernamente, técnicas moleculares têm sido usadas para classificação e identificação de fungos e contribuído para o melhor entendimento das relações filogenéticas entre grupos e espécies de fungos.

Protozoários

Os protozoários são organismos eucarióticos unicelulares, podendo ser encontrados em vida livre, parasitando ou em simbiose com plantas e animais. Estima-se em 65 mil o número de espécies, sendo a metade constituída de fósseis e 10 mil são parasitas. Eles são, juntamente com os nematoides, os principais predadores de microrganismos dos ecossistemas terrestres. Como os protozoários apresentam-se como grupo grande e diverso, principalmente os de vida livre, esquemas de classificação das espécies em filos e subfilos são baseados na motilidade, superfície celular, estruturas para alimentação, estrutura nuclear e até na presença de bactérias simbióticas (TORTORA, 2000 citado por GODINHO; REGALI-SELEGHIM, 1999). Para mobilidade, usam flagelos, cílios ou realizam movimento ameboide. Diferentemente de plantas e fungos, os protozoários não têm parede celular. Eles são abundantes em muitos ambientes e alguns são patogênicos. A alimentação é realizada por fagocitose. Os protozoários podem ser encontrados em ambientes aquáticos, solos, rúmen de animais, em simbiose com térmites etc. (GRANDCOLAS, 1999).

Até recentemente, a classificação dos protozoários era baseada, primordialmente, em aspectos morfológicos. Com o advento de técnicas moleculares, os marcadores genéticos têm ajudado nas novas determinações do conceito de espécies nesse grupo. Mas há comitês que ainda consideram Protozoa um subreino do Reino Protista, com as espécies distribuídas em sete filos: Sarcomastigophora, Apicomplexa, Ciliophora, Labyrinthomorpha, Macrospora, Ascetospora e Myxospora. Já Corliss (1998) considera o Reino Protozoa (e não subreino) e propõe 13 filos: Apicomplexa, Ascetospora, Choanozoa, Ciliophora, Dinozoa, Euglenozoa, Heliozoa, Mycetazoa, Opalozoa, Parabasala, Percolozoa, Radiozoa e Rhizopoda.

Nomenclatura Bacteriana e a Importância das Coleções de Culturas

As coleções de culturas, em sua forma mais abrangente, são centros de conservação de recursos genéticos, para uso em programa de interesse da sociedade e para garantir o acesso a esse capital biológico às gerações futuras. Ademais, elas geram, em função de suas atividades de rotina, uma infinidade de dados de pesquisa e informações sobre seu acervo.

Desde o início da microbiologia, uma infinidade de microrganismos foi isolada dos mais diversos ambientes naturais e empregada na pesquisa científica e na fermentação industrial. Porém, um número incalculável desses microrganismos foi perdido no passado e já não se encontra disponível, devido à inexistência de coleções de culturas apropriadas para sua manutenção. Entretanto, a pesquisa necessita de fontes disponíveis de culturas adequadamente preservadas. Com o avanço das ferramentas da biologia molecular e o crescente interesse pelo conhecimento da biodiversidade do planeta, espera-se que grande número de linhagens de microrganismos seja obtido e melhorado em seus atributos para os mais diversos fins. Existe, portanto, uma demanda urgente por coleções bem organizadas e disponíveis, como depositárias e promotoras de pesquisas em diferentes áreas de aplicação.

Em referência aos dados mencionados anteriormente, relativos à quantidade de bactérias (3,6 mil espécies) e de fungos (69 mil espécies) conhecidos, Komagata (1999) atribuiu a grande discrepância nesses números às diferenças na nomenclatura usada para fungos e bactérias e às sucessivas mudanças no código internacional de nomenclatura bacteriana promovidas pelo International Committee on Systematic Bacteriology (ICSB) da International Union of Microbiological Societies (IUMS), desde 1976. O ICSB aprovou apenas as espécies bacterianas cujas cepas-tipo estão depositadas em coleções de culturas, bem como publicou, em

1980, as listas aprovadas de nomes contendo cerca de 1.800 bactérias, em 300 gêneros. Os nomes não contidos nessa lista perderam seu status em nomenclatura de bactéria e, daí em diante, os novos nomes passaram a ser publicados apenas no *International Journal of Systematic Bacteriology* (IJSB), que constitui-se na única fonte para nomenclatura bacteriana. Além disso, exige-se que cepas-tipos nomenclaturais de novas espécies sejam designadas para publicações válidas e que culturas vivas oriundas de cepas-tipos sejam depositadas e mantidas disponíveis em uma coleção de referência.

Esse fato ilustra o papel importante desempenhado pelas coleções de culturas, de repositórios de cepas em bacteriologia, sem as quais o estudo de sistemática bacteriana não seria completo.

Em linhas gerais, as principais funções de uma coleção de cultura são:

1. Obter, multiplicar, manter e assegurar a oferta de microrganismos procedentes de ambientes naturais, bem como materiais deles derivados (na forma de cDNA, plasmídeos, vetores de transferência e expressão gênica e organismos geneticamente modificados), de relevância para aplicações diversas, nas áreas da biologia, biotecnologia, microbiologia, ensino e outros segmentos interessados.

2. Gerar e oferecer, à comunidade científica e à indústria, informações sobre os componentes da coleção, por meio da divulgação de catálogos, listas especiais e base de dados.

3. Fornecer, aos cientistas e instituições interessadas, culturas puras, de acordo com as leis e regulamentos nacionais e internacionais de intercâmbio e mediante termos de transferência estabelecidos.

4. Funcionar como unidades de depósito de material de referência para cepas-tipos.

5. Funcionar em base confidencial, como unidade segura para depósito de material biológico com propósito de patente, obedecendo à legislação nacional vigente e ao Tratado de Budapeste.

6. Atuar como centro consultivo para as comunidades científicas e oferecer ensino e serviços nas linhas de pesquisa e microrganismos para os quais está habilitada.

As coleções de culturas, portanto, são críticas e cruciais para o desenvolvimento completo das diferentes áreas relacionadas à microbiologia. Desse modo, sua operação e manejo não devem permanecer como atividades circunscritas aos interesses individuais de pesquisadores. Ao contrário, aumenta anoaano a necessidade de intercâmbio de informações e cooperação entre coleções, para melhor cumprimento do papel social a que se propõem.

Ao contrário do verificado com as bactérias, fungos e vírus, não existem coleções oficiais de protozoários no Brasil, mas há algumas espécies de protozoários patogênicos preservados na Faculdade Paulista de Medicina, UFMG, UnB, UFRJ e de protozoários de vida livre mantidos pela UFRJ e UFSCar (GODINHO; REGALI-SELEGHIM, 1999).

Esses protozoários são mantidos, na maioria das vezes, em repiques sucessivos; geladeira a 4 °C; nitrogênio líquido ou no próprio hospedeiro. Já no exterior, são encontradas coleções na American Type Culture Collections, Carolina Biological Supply e Smithsonia Institution, nos Estados Unidos; Japan Collection of Microorganisms, no Japão; Culture Centre of Algae and Protozoa, na Inglaterra.

A formação de um Banco de Germoplasma com esses agentes é de real importância, pelo levantamento, conhecimento e conservação desses recursos genéticos em locais apropriados; pelas possibilidades de intercâmbio com instituições nacional e internacional; e pela disponibilidade

desses organismos para estudos e testes pela comunidade científica e outros segmentos interessados.

Cabe lembrar que conservar uma coleção de culturas implica em conhecer o arcabouço legal, tanto do próprio país como aqueles definidos por tratados internacionais, que norteiam um conjunto de normas para a manipulação, o armazenamento, o intercâmbio e o funcionamento das instituições depositárias de material biológico.

Fontes da Diversidade Microbiana

Os microrganismos são encontrados nos mais diversos ecossistemas do planeta, desde os mais ricos em recursos naturais até os mais adversos à vida. Hawksworth (1991) estimou de forma conservadora o número existente de espécies microbianas em cerca de 1,82 milhões e calculou que o número total de espécies descritas, entre fungos, bactérias (incluindo as do domínio Archaea), algas, protozoários e vírus seja de 157 mil. Admitem-se, em relação ao material mantido em coleções de culturas, em torno de 3,6 mil as espécies bacterianas conhecidas, contra 69 mil espécies de fungos, 31 mil protozoários e 5 mil vírus. Portanto, a vasta maioria dos microrganismos supostamente existentes na natureza, bem como as suas funções fisiológicas e metabólicas, sua filogenia e posição taxonômica permanecem desconhecidas e a serem exploradas.

A principal estratégia de bioprospecção adotada pelas empresas multinacionais consiste na busca de microrganismos provenientes da maior diversidade de ambientes possível, obtendo, entre outras, amostras de solo, isolados de fungos e bactérias endofíticas e microrganismos associados a plantas e insetos, principalmente em regiões tropicais ainda pouco exploradas (PFENNING, 2001). Procedimentos para o isolamento de microrganismos, bem como as técnicas especiais de recuperação de fungos e bactérias a partir do material amostrado, dependem do tipo de

organismo e do substrato em questão, existindo farto material bibliográfico para consulta a esse respeito (DHINGRA; SINCLAIR, 1985; BULL et al., 1992; MELO; AZEVEDO, 1997; ALVES et al., 1998; ARAÚJO, 1998; POLANCZYK; ALVES, 2003; PILEGGI, 2006).

Os solos constituem o mais rico reservatório da diversidade microbiana. Um grama de solo pode conter 10 bilhões de microrganismos, representando milhares de espécies (ROSSELÓ-MORA; AMANN, 2001). Tomando como exemplo as populações bacterianas, a camada superficial do solo pode conter valores superiores a 10^9 cel/grama (GARBEVA et al., 2004). Entretanto, apenas uma pequena fração dessas células pode, ainda hoje, ser cultivada em laboratório, por diversos fatores, entre os quais, desconhecimento sobre exigências nutricionais específicas dessa imensa diversidade de organismos, sua biologia e cripticidade. Isso limita não apenas a exploração econômica dos microrganismos, mas também o conhecimento da estrutura funcional da diversidade microbiana presente no solo.

Uso dos Microrganismos

O Brasil é um país megadiverso, o que o transforma, juntamente com outros países do neotrópico, em área prioritária para coleta dos grandes laboratórios, na constante busca por novos antibióticos e cura de doenças do mundo moderno, como câncer e AIDS (DIANESE; DIANESE, 2002). Vale destacar que esse fato fez com que emergisse no país a consciência da necessidade de medidas que regulem a realização de expedições científicas por estrangeiros no território nacional.

Produtos originados de fungos

Entre os produtos medicinais advindos da diversidade microbiana, amplamente utilizados pela humanidade, podem ser citados aqueles

resultantes do metabolismo secundário de fungos, tais como: penicilina e seus derivados produzidos por *Penicillium chrysogenum* Thom e *P. notatum*; cefalosporinas, um grupo de antibióticos de amplo espectro produzido por *Acremonium chrysogenum;* griseofulvina, agente fungistático fornecido por *Penicillium griseofulvum* Dierckx*;* uma série de alcaloides vasoconstritores produzidos por *Claviceps purpurea* Tul., utilizados como agentes anti-hemorrágicos; e, finalmente, a ciclosporina, primeiro imunossupressor de sucesso, extensivamente usado na prevenção da rejeição de órgãos transplantados, produzido por *Tolypocladium inflatum* (=*Trichoderma polysporum*).

Certos fungos apresentam grande capacidade de produzirem enzimas, muitas das quais resultantes de mecanismos com os quais os microrganismos interagem na natureza. Essas enzimas incluem celulases e hemicelulases, produzidas por *Trichoderma* spp.; lipases, pentosanases e proteases, produzidas por *Aspergillus* spp.; beta-glucanase, celulase, glucoamilase, glucose oxidase, lactase, amilase e pectinase, produzidas por *A. niger*; alfa-amilase, produzida por *A. orizae*; glucoamilase, produzida por *A. awamori*; dextranase produzida por *Penicillium* sp., etc. (KOIVULA et al., 1998; DIANESE; DIANESE, 2002). Essas enzimas podem ser utilizadas para diferentes propósitos, como na produção de alimentos, óleos, sucos de frutas e na vinificação, entre outros.

Na alimentação humana, merecem ser citadas as espécies de macrofungos amplamente utilizadas como alimentos frescos ou em combinação com carnes e vegetais, ou ainda, na forma fermentada. Por exemplo, o cogumelo comum (*Agaricus bisporus*).

Fungos são também importantes e às vezes indispensáveis na fabricação de queijos finos, como é o caso de *Penicillium roqueforti*, nos queijos Rochefort e Gorgonzola, e *Penicillium camemberti*, nos queijos Camembert ou Brie (DIANESE; DIANESE, 2002). Do mesmo modo, comidas e molhos fermentados são também produtos das atividades metabólicas de fungos, por exemplo: *Monascus purpurea* produz o "Ang- kak"; *Aspergillus*

oryzae, o "Hamanatto"; *A. oryzae* e *A. sojae*, o "Missô" e o "Shoyu"; e *Neurospora intermedia*, o "Ontjon".

Vale ressaltar que, na indústria de alimentos fermentados, a demanda é por produtos de qualidade uniforme, ao qual se agregam inoculantes selecionados. Os existentes no mercado, de origem estrangeira, nem sempre se adaptam às condições ambientais das fermentações locais, levando à necessidade de se selecionar cepas de microrganismos indígenas com caráter competitivo, dominante e que confiram características organolépticas próprias do produto local. Para esse propósito, são imprescindíveis as coleções de culturas originadas na região de aplicação (SFREDDO et al., 2005).

Bactérias láticas e probióticos

Existe um grupo de bactérias, denominadas bactérias ácido-láticas, não patogênicas, que são de grande importância na indústria de alimentos e estão principalmente associadas aos produtos lácteos fermentados. São espécies dos gêneros *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Lactococcus*, entre outros. Determinadas cepas dessas bactérias, reconhecidas pelos seus benefícios à saúde, vêm sendo alvo de interesse para produção de alimentos funcionais e preparações farmacêuticas, recebendo o nome genérico de probióticos. É importante mencionar que esse termo inclui também as leveduras *Saccharomyces boulardii*, de uso humano e *S. cerevisiae*, utilizada na, medicina veterinária (MARTINS et al., 2005).

De acordo com Font de Valdez e Martos (2005), as "bactérias lácteas" (BAL) são descritas como um amplo grupo de microrganismos em forma de cocos e bacilos, gram-positivos, não esporulantes anaeróbicos ou microaerófilicos, usualmente imóveis, catalase-negativa, nitrato-redutase-negativo, que fermentam os carboidratos com formação de ácido lático como principal produto. Essas bactérias são exigentes em sua nutrição,

requerendo meios complexos para crescimento, ricos em carboidratos, aminoácidos, peptídeos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas e oligo-elementos, além de baixa tensão de oxigênio. Aliado a isso, elas possuem grande capacidade de adaptação a condições ambientais diversas, o que favorece sua ampla disseminação na natureza e em nichos diferenciados (leites e produtos lácteos fermentados, vegetais, ensilados, massa de padaria, trato intestinal e nas mucosas do homem e animais, bebidas etc).

A denominação "bactérias lácteas" enfatiza o aspecto comercial do metabolismo desses microrganismos. Nos alimentos, elas não só contribuem para o sabor e textura dos produtos fermentados, como também inibem o crescimento de bactérias indesejáveis pela produção de grandes quantidades de ácido lático e, em alguns casos, de substâncias inibidoras – as bacteriocinas. Assim, são largamente empregadas como fermentos ("sementes") na manufatura de produtos lácteos, tais como iorgurtes, bebidas lácteas, queijos de consistência firme como o, Cheddar, Provolone, Romano, Edam, e queijos pastosos, como Brie e Camembert (JAY 1986, citado por FONT de VALDEZ; MARTOS, 2005). São também usadas na indústria de embutidos, bebidas e cervejas e reconhecidas como contaminantes de alimentos processados (CAI et al., 1998). Algumas dessas bactérias, ao atuarem sobre um substrato proteico, liberam peptídeos bioativos, os quais possuem efeito benéfico como antioxidantes, hipotensores ou estimulantes do sistema imunológico. Em outros casos, o sistema proteolítico desses organismos é usado para acelerar a "cura" de queijos ou para gerar produtos aromatizantes.

Cepas de *Lactobacillus* e *Pediococcus* isoladas de massa de padaria obtida por fermentação natural utilizam o glúten como única fonte de nitrogênio em meio de cultivo. Devido a essa propriedade, apresentam potencial para serem usadas na redução de certos componentes alergênicos derivados de glúten, como a gliadina, que estaria envolvida na doença celíaca. Do mesmo modo, cepas com atividade galactosidase poderiam ser usadas para solucionar o problema de flatulência em alimentos a base

de soja, causado pela presença de elevado conteúdo de alfa-D-galactosil oligossacarídeo (GARRO et al., 2004).

A capacidade de produzir certas vitaminas do grupo B (ácido fólico, vitamina B12) requeridas para seu próprio crescimento, como é o caso de *Lactobacillus reuteri*, é outra propriedade que chama atenção nessas bactérias. Estudos vêm sendo realizados na caracterização e análise bioquímica, bem como na determinação de rotas metabólicas, para aprimorar a produção desses compostos.

Baculovirus e suas aplicações

Os vírus na sua maioria são vetores gênicos por excelência. Bacteriófagos, baculovírus, retrovírus, adenovírus e vírus adenoassociados são exemplos de vírus que podem ser geneticamente modificados com aplicações na pesquisa, agricultura, e na medicina.

Os primeiros registros de ocorrência de baculovírus encontrados na literatura datam do século 16 em relatos acerca de doenças de insetos de importância econômica, como o bicho-da-seda *(Bombyx mori*), e de epizootias causadas por baculovírus em populações de insetos-praga agrícolas e florestais. No início de 1940, os baculovírus passaram a ser vistos como possuidores de grande potencial de uso no controle de pragas na agricultura. Mais adiante, verificou-se que esses vírus, além de bioinseticidas, também poderiam ser usados como vetores de expressão gênica (MILLER, 1988), o que resultou em avanços significativos na pesquisa básica e na produção de proteínas de importância na agricultura e na medicina.

Nos últimos 20 anos, o sistema de expressão de baculovirus em células de insetos tem se tornado um dos mais utilizados para produção de proteínas recombinantes, possibilitando o desenvolvimento de estratégias e instrumentos automatizados visando maximizar a construção de

vetores mais eficientes e seguros. Mais recentemente, a biotecnologia tem explorado o uso desses vírus também para avanços principalmente em estudos de regulação gênica e função proteica, preparação de vetor viral, estudos de terapia gênica e geração de vetores de vacina. A terapia gênica surgiu como uma área promissora de pesquisa científica e aplicações clínicas que deverá trazer importantes soluções e repercussões para a ciência e para a sociedade em geral (LIANG et al., 2003; TANI et al., 2003).

Atualmente, já se tem documentado um número de artigos e revisões que mostram o progresso e a aplicabilidade dos baculovírus como fonte de recursos genéticos de grande importância no desenvolvimento de diversos produtos biológicos. Entre os vírus, os baculovírus provavelmente sejam os únicos com uma amplitude tão grande de aplicações biotecnológicas, que, além dos formulados de inseticidas virais de ocorrência natural e modificados geneticamente, destacam-se como ferramentas de pesquisa laboratorial, tanto no setor acadêmico como no privado.

Protozoários e importância

Dentro da importância em se realizar estudos com protozoários, está sua grande diversidade funcional em ambientes naturais (GODINHO; REGALI-SELEGHIM, 1999), podendo ser usados, por exemplo, como indicadores da qualidade da água e em processos de autopurificação em sistemas de tratamento biológico de águas residuais (SLÁDECEK, 1973; CURDS, 1992 citados por GODINHO; REGALI-SELEGHIM, 1999). São primordiais, também, na mineralização de nutrientes, na regularização da população bacteriana e como fontes de alimentos para outros organismos (COLEMAN, 1985).

Os protozoários compõem uma área em que ainda se necessita realizar intensa pesquisa e conhecimento, principalmente, em relação a sua biodiversidade e biocomplexidade, pela sua grande importância na natureza (CORLISS, 2001).

Microrganismos fixadores de nitrogênio

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) na natureza é um processo que consiste na redução do nitrogênio atmosférico (N_2) a amônia (NH_3), mediado por algumas espécies de organismos procariotos, denominados diazotróficos ou fixadores de nitrogênio. Tais organismos, pertencentes a diversos grupos filogenéticos de bactéria, incluindo actinobactérias e cianobactérias ou algas azuis e Archaea, ocupam nichos distintos, podendo viver independentemente (os de vida livre), em fracas associações ou como simbiontes.

Estima-se em 65% o total de nitrogênio fixado anualmente no planeta pela FBN; o restante provém de processos de fixação industriais (como o de Haber-Bosch), que produzem parte significativa dos fertilizantes nitrogenados usados na agricultura, existindo ainda o processo mediante descargas elétricas na atmosfera, cuja contribuição é pouco significativa (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Portanto, tais organismos são de grande importância na disponibilização desse elemento em forma assimilável, necessária à sobrevivência e crescimento dos vegetais.

Apesar da reconhecida importância dos microrganismos como meio de introdução de nitrogênio nos ecossistemas agrícolas, seu uso prático foi desconsiderado por muito tempo, devido ao rápido desenvolvimento da indústria de fertilizantes químicos. Entretanto, a crise do petróleo da década de 1970 trouxe um significativo aumento dos custos desses produtos, fato que atingiu principalmente a economia agrícola dos países em desenvolvimento. Diante disso, um grande esforço tem sido dedicado, nas últimas décadas, à pesquisa e desenvolvimento de tecnologias relacionadas à FBN.

Espécies dentro de vários gêneros, incluindo *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Azotobacter* e *Pseudomonas*, são diazotróficas de vida livre que podem ocorrer em diversos tipos de solo, na rizosfera e filosfera de plantas e nas águas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O potencial de fixação de nitrogênio por essas bactérias é restrito, pois está sujeito às limitações de fontes de carbono no solo. No entanto, algumas espécies podem formar associações com plantas, especialmente monocotiledôneas, ou colonizar o hospedeiro endofiticamente, obtendo desse modo o carbono necessário. No gênero *Azospirillum*, por exemplo, estão bactérias amplamente encontradas em solos de clima tropical e subtropical, em associação com raízes ou colonizando tecidos internos de gramíneas de grande importância econômica, como arroz, milho, cana-de-açúcar, sorgo, trigo e diversas forrageiras (MAGNANI, 2005). Estas são altamente promissoras para aplicações na agricultura, graças a seus efeitos benéficos sobre o crescimento vegetal, que incluem a produção de hormônios vegetais, como o ácido indol-acético.

Gloeothece, *Oscillatoria*, *Plectonema*, *Anabaena* e *Nostoc* pertencem ao grupo das cianobactérias de vida livre. Entretanto, algumas simbioses interessantes desses organismos com diatomaceas, fungos e plantas têm sido relatadas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Um exemplo clássico é a simbiose *Anabaena / Nostoc* com a pteridófita aquática *Azolla*, explorada como adubação verde ou consorciada com arroz inundado nos países asiáticos.

Actinomicetos do gênero *Frankia* são conhecidos por formarem associações com angiospermas não leguminosas. As plantas hospedeiras, nesse caso, são denominadas actinorrizas, sendo o pinheiro australiano (Casuarina) o caso mais estudado.

Entretanto, as associações mais eficientes são as que ocorrem entre bactérias designadas como rizóbios e plantas leguminosas. Seus efeitos benéficos são conhecidos há séculos e hoje vêm sendo amplamente explorados do ponto de vista comercial. No caso da cultura da soja, por exemplo, o uso de inoculantes substitui totalmente os fertilizantes nitrogenados, trazendo, para o Brasil, uma enorme economia de divisas.

A simbiose entre rizóbios e leguminosas tipicamente envolve a formação de estruturas hipertróficas nas raízes e excepcionalmente no cau-

le, denominadas nódulos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O termo rizóbio engloba bactérias pertencentes à ordem Rhizobiales, em diversas famílias, incluindo Rhizobiaceae. Entre os gêneros que nodulam espécies de leguminosas economicamente importantes, podem ser destacados: *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradirhizobium*, *Azorhizobium e Mesorhizobium*.

Fatores bióticos e abióticos atuando tanto sobre a bactéria como sobre o hospedeiro podem interferir no processo de nodulação. Além disso, os efeitos desses fatores podem variar de acordo com a espécie nodulante envolvida, cujo potencial de FBN pode ser classificado em baixo, médio e alto, embora a capacidade de nodulação da maioria dessas interações seja ainda desconhecida.

Microrganismos biorremediadores

A biorremediação é um processo biológico no qual são utilizados organismos vivos para transformar substâncias nocivas em compostos não tóxicos ou menos tóxicos. Um produto biorremediador é aquele constituído por microrganismos (ou suas enzimas) destinados à recuperação de ambientes e ecossistemas contaminados.

As bactérias são os organismos mais abundantes e os mais versáteis degradadores de pesticidas (HEAD et al., 1990), hidrocarbonetos aromáticos, alifáticos e outros compostos orgânicos, ajudando a desintoxicar os solos e efluentes. As populações de bactérias variam de 10^6 a 10^9 organismos g^{-1} solo, onde predominam os gêneros *Arthrobacter*, *Pseudomonas* e *Bacillus* (PEPPER et al., 1996).

No caso do herbicida atrazina [2-chloro-4-(ethylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine], cuja biodegradação é difícil, foi relatada a ação de bactérias dos gêneros *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Bacillus* e principalmente *Pseudomonas*, embora a degradação parcial da molécula tenha sido também relatada por fungos, tais como *Aspergillus fumigatus* e *Rhizopus stolonifer*. O gênero *Pseudomonas* é um dos mais versáteis, que mostra

possuir um amplo leque de rotas catabólicas, sendo capaz de degradar também outros herbicidas, como o 2,4-D (BELK; KHAN, 1986; BELK; KHAN, 1994; UETA et al., 2007).

Alguns fungos basidiomicetos apresentam características interessantes para sua aplicação como remediadores: são capazes de crescer sob condições de estresse ambiental que limitam o crescimento bacteriano e apresentam crescimento induzido quimiostaticamente em direção à fonte de carbono, podendo desse modo colonizar grandes áreas. Diversos poluentes orgânicos antes considerados persistentes têm sido degradados por esses fungos (MATHEUS, 2005).

Os pesticidas organoclorados, assim como o DDT, bifenilas policloradas e vários corantes sintéticos, têm sido considerados substâncias químicas merecedoras de urgente atenção, pois os resíduos desses poluentes são encontrados em diversas regiões, principalmente nas subdesenvolvidas, incluindo-se aí o Brasil. Ademais, são muito resistentes à degradação por processos bioquímicos, por isso são extremamente estáveis e de longa vida, tóxicos e bioacumulativos nos tecidos animais e humanos, causando, entre outros prejuízos, doenças graves como o câncer e a perda da biodiversidade. O metabolismo desses compostos poluentes por fungos basidiomicetos constitui um processo oxidativo extracelular e inespecífico, resultante da ação coordenada de uma série de enzimas, intra e extracelulares (peroxidases, lacases e oxidases produtoras de peróxido de hidrogênio). O potencial de aplicação destas enzimas tem sido objeto de grande interesse, não apenas ambiental, mas também acadêmico e industrial (MACHADO, 2005).

No mundo desenvolvido, é crescente o uso de biorremediadores no tratamento de esgotos domésticos e industriais, com o propósito de preservar o meio ambiente e a saúde humana. Os diversos organismos coexistem em equilíbrio dinâmico formado pelas interações dos fatores bióticos e abióticos, os quais podem ser alterados pelas modificações do ecossistema.

No tocante aos sistemas agrícolas, a perda da diversidade microbiana dos solos é prejudicial para a conservação do ambiente, pois os microrganismos, além da capacidade de mineralizar compostos organoclorados, provêm um recurso genético que pode ser usado para biorremediação ou biorrecuperação de solos contaminados[1]. Entretanto, ao considerar a magnitude da diversidade microbiana dos solos neotropicais, observa-se uma necessidade proeminente de se conhecer o potencial de aplicação desses organismos em processos de biorremediação, uma vez que vários estudos têm evidenciado forte influência dos diversos componentes dos solos sobre a ação enzimática e a biorremediação dos poluentes orgânicos.

Microrganismos agentes de controle biológico

Os índices elevados de produção obtidos na agricultura moderna baseiam-se na expansão das fronteiras agrícolas e no aumento da produtividade pela melhoria do material genético e pelo uso de práticas modernas, onde plantas geneticamente uniformes são extensivamente cultivadas. Esse arsenal tecnológico empregado tem permitido suprir de alimentos a crescente população mundial. Entretanto, essa não é uma situação natural e, do ponto de vista ecológico, oferece oportunidade para a invasão das culturas por espécies de plantas daninhas, pragas, como insetos, ácaros, nematoides etc. e um considerável número de microrganismos fitopatogênicos. Frente a isso, os pesticidas químicos são utilizados em larga escala com o propósito de proteger as plantas desses danos que, ainda assim, levam a perdas estimadas em torno de 33% das colheitas.

Os pesticidas químicos, embora sejam geralmente efetivos, apresentam inúmeros efeitos indesejáveis, resultando em custos para a saúde pública e o meio ambiente. Contudo, as possibilidades de mudanças nas técnicas agrícolas atuais, especialmente o monocultivo, são reduzidas, considerando a necessidade de produção de alimentos para uma população crescente. Diante disso, os pesquisadores são desafiados pela neces-

[1] Maria Laura Tourinho Mattos, comunicação pessoal.

sidade de buscar novas técnicas, efetivas e ecologicamente sensatas de controle de agentes nocivos à agropecuária e à saúde humana.

O termo controle biológico tem sido usado em diferentes campos da biologia, notadamente na entomologia e na fitopatologia. Em entomologia, ele se refere ao uso de insetos predadores, nematoides entomopatogênicos e patógenos microbianos para suprimir populações de diversos insetos. Na fitopatologia, o mesmo termo é aplicado ao uso de antagonistas para suprimir doenças e, da mesma forma, descreve o uso de patógenos de hospedeira específica, para controlar populações de plantas daninhas (PAL et al., 2006).

Em geral, o controle biológico refere-se ao uso humano de um organismo vivo para controlar outro organismo. Um conceito mais abrangente é apresentado por Nigam e Mukerji (1986). De acordo com esses autores, o controle biológico envolve não apenas a introdução em massa de antagonistas no sistema de cultivo, mas também a manipulação do ambiente em favor dos organismos residentes benéficos via rotação de cultura, manejo de restos culturais, manipulação da planta hospedeira para resistência, ou adequação para as atividades dos antagonistas, linhagens não patogênicas ou outros organismos ou agentes benéficos. O controle biológico natural é um fator efetivo para o balanço ecológico entre espécies nocivas e seus antagonistas. Por exemplo, microrganismos residentes do filoplano podem influir na incidência de patógenos foliares por antagonismo direto ou por indução de resistência na planta hospedeira. Resistência pode ser ativada, tanto por pré-infecção do hospedeiro como por metabólitos produzidos por microrganismos saprófitos, não fitopatogênicos. Assim, o controle biológico é a manipulação direta ou indireta, pelo homem, de organismos benéficos, naturalmente residentes ou introduzidos, para aumentar seu ataque às espécies nocivas. Como as relações biológicas entre os diversos organismos na natureza são específicas, o método de controle deve ser trabalhado para cada caso, especificamente (NIGAM; MUKERJI, 1986).

Os métodos de controle biológico devem ser usados como parte de um programa de manejo integrado (MIP), dessa forma minimizando os efeitos adversos sobre o meio ambiente e qualidade da água, podendo, ainda, representar uma alternativa mais econômica do que os pesticidas químicos. Entre esses métodos de controle alternativos que vêm sendo pesquisados, já com inúmeros exemplos de resultados práticos, destaca-se o uso de microrganismos e seus metabólitos.

Entre os agentes microbianos de controle biológico de ocorrência natural com possibilidade de utilização no controle de insetos, as espécies do gênero *Bacillus* merecem especial destaque (SILVA; MONNERAT, 2001). A espécie mais estudada e utilizada no campo é *Bacillus thuringiensis* (Berliner), bactéria de ampla distribuição geográfica. Uma das grandes vantagens de sua utilização é a inocuidade ao homem e animais domésticos, além de seu efeito não poluente ao ambiente. A atividade inseticida dessa bactéria é devida à produção de inclusões proteicas cristalinas durante a fase de esporulação. Essas inclusões proteicas são codificadas por genes *cry*, os quais podem estar localizados tanto no cromossomo como em grandes plasmídeos ou em ambos (POLANCZYK; ALVES, 2003). A maioria das cepas de *B. thuringiensis* (Bt) pode sintetizar mais de um tipo de cristal (LERECLUS et al., 1992), que podem estar formados por distintas δ-endotoxinas, relacionadas entre si. Relatos recentes citam o registro de mais de 120 toxinas diferentes produzidas por essa bactéria.

Produtos à base de *B. thuringiensis* são comercializados há mais de 50 anos. Existem no mercado internacional bioinseticidas que são empregados para o controle de lagartas, mosquitos e borrachudos. Laboratórios em todo o mundo procuram estirpes que produzam novas toxinas e que estejam mais adaptadas às condições de cada local. Dois bioinseticidas brasileiros foram desenvolvidos para controle dos mosquitos *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*, a partir de estirpes *B. thuringiensis* e de *Bacillus sphaericus*, pertencentes à Coleção da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Outro agente microbiano, também de ocorrência natural, que vem sendo usado com bastante sucesso no controle biológico de pragas são os vírus do grupo baculovírus (SZEWCZYK et al., 2006). Os baculovírus têm-se tornado importantes agentes de controle em programas de manejo integrado de pragas, principalmente pela sua especificidade, segurança com relação a organismos não-alvos, preservação do meio ambiente, e pela sua proteção em cristais proteicos. Essas características têm permitido a formulação de biopesticidas com fácil tecnologia de aplicação, trazendo benefícios econômicos e ambientais. Atualmente, alguns já se encontram comercialmente disponíveis como produtos formulados. Entre eles, destaca-se um inseticida viral, na forma de pó molhável, que vem sendo muito utilizado pelos agricultores de soja no Brasil produzido a partir do baculovirus *Anticarsia gemmatalis multiple nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV) e desenvolvido pela Embrapa Soja (Londrina-PR) com a contribuição de empresas privadas. Moscardi e Santos (2005) relatam que, até o ano de 2003, toda a produção desse bioinseticida era feita no campo para processamento e formulação por companhias privadas. Após o melhoramento de procedimentos de produção em laboratório, seguido de ajustes por companhias privadas, foi possível, em final de 2004, a implementação de um grande laboratório para produção comercial de AgMNPV. A previsão para alcançar a capacidade máxima desse laboratório é expandir a produção do bioinseticida para inoculação de 600 mil larvas/dia, o que envolverá 45 empregados para produzir vírus para tratamento de aproximadamente 1,4 milhão de hectares de soja/ano.

Outros vírus com potencial de uso em controle de pragas têm sido isolados de diversas culturas agrícolas, florestais e pastagens (KITAJIMA, 1986; MILLER, 1997; MOSCARDI, 1999).

Apesar de alguns inseticidas virais serem reconhecidos como bem-sucedidos no controle de pragas e de apresentarem grande potencial agrícola, o interesse no desenvolvimento tecnológico desses agentes como inseticidas microbianos ainda continua restrito. Na tentativa de

alterar essa situação, indústrias vêm propondo várias estratégias com tecnologias aplicáveis à produção de bioinseticidas em sistemas in vivo e, mais recentemente, in vitro, dirigindo esforços para o desenvolvimento de produtos com formulações mais adequadas que atendam aos requerimentos de padronização e controle de qualidade para seu registro e comercialização.

Atualmente, tem se investido muito na pesquisa para desenvolvimento de sistemas de produção in vitro,em face dos fatores limitantes gerados durante o processo de cultivo, como a acumulação de mutantes FP (*few polyhedra*) e de partículas interferentes defectivas (DIPs). Essas alterações genéticas podem levar à perda de virulência, o que tem dificultado a produção de baculovírus in vitro, em larga escala.

Portanto, a busca de metodologias e processos celulares para uma produção comercial expressiva de inseticidas virais, a partir de baculovírus do tipo selvagem e, mais recentemente, de baculovírus geneticamente modificados, tem gradualmente aumentado. Esses últimos são capazes de produzir proteínas, como hormônios, proteases, toxinas e neurotoxinas, que interferem especificamente no metabolismo e metamorfose dos insetos, levando seus hospedeiros a uma morte mais rápida comparada à morte por bioinseticidas naturais. Portanto, bioinseticidas geneticamente modificados apresentam considerável potencial econômico na medida em que podem reduzir o uso de agroquímicos e aumentar a produção agrícola. Porém, além da exigência de estudos de impacto ambiental para uso desses produtos, é importante ressaltar que o desenvolvimento mais intenso de estudos de biologia molecular e ecologia de baculovírus também poderá contribuir para uma maior eficácia e segurança do uso desses bioinseticidas no campo.

No caso de protozoários, eles são reconhecidos, também, como importantes agentes na regulação natural da população de insetos, inclusive sendo usados com agentes de controle biológico de insetos-praga (CASTELO BRANCO JUNIOR, 1998, HAJEK, 2004). Nesse caso, quatro fi-

los apresentam espécies parasitas de insetos: Sarcomatigophora, representados pelos flagelados e amebas; Apicomplexa, em que se destacam as gregarinas, neogregarinas e coccídeos; Ciliophora, representados pelos ciliados; e Microspora, em que se incluem os microsporídeos (UNDEEN; VÁVRA, 1997). A maioria das formas mais virulentas ocorre nos Phylla Apicomplexa e Microspora, principalmente aqueles que invadem a hemolinfa e apresentam desenvolvimento intracelular (LANGE, 1990; TANADA; KAYA, 1993).

O Phyllum Microspora tem demonstrado ser o mais importante grupo de protozoários patogênicos a insetos, sendo encontrado espécies desse microrganismo parasitando diversas ordens (SPRAGUE, 1982). Já existe no mercado um biopesticida à base do microsporídeo *Nosema locusta* registrado nos Estados Unidos, indicado para uso no controle de gafanhotos.

Apesar de, na maioria das vezes, exibirem baixa patogenicidade quando comparados a fungos, bactérias e vírus, os protozoários têm sido gradualmente citados como um dos agentes de grande potencialidade no uso em controle biológico, pois é reconhecido como importante arma na regulação da densidade populacional de muitos insetos (HENRY, 1990). Além do pouco conhecimento da relação desses microrganismos com os insetos, sabe-se que aqueles causam doenças de desenvolvimento lento e crônico que debilitam estes, possibilitando o emprego integrado com outros agentes no controle de pragas. Entretanto, há poucos estudos relacionados com o uso de protozoários no controle biológico de insetos. No Brasil, por exemplo, há poucas informações sobre trabalhos desenvolvidos no assunto e, em outros países, ainda é incipiente os estudos, mesmo se tratando de um grupo que já possui mais de 1.200 espécies isoladas de insetos (LIPA, 1967).

A maioria dos trabalhos relacionados com os estudos sobre agentes de controle biológico, notadamente microrganismos, tem sido particularizada a fungos, bactérias e vírus, aliado ainda a nematoides e parasitoides. Os fatores que justificam essa preferência são: melhores resultados

conseguidos com esses agentes, facilidades de cultivo e criação, equipamentos disponíveis e, principalmente, os interesses e contingentes de recursos humanos já treinados em todo o mundo.

As enfermidades fúngicas causadas pelos entomopatógenos afetam todas as ordens de insetos. Nos mastigadores e sugadores, destaca-se a capacidade que possuem certos fungos de penetrarem através do tegumento que constitui uma barreira físico-química eficiente contra a penetração de grande número de bactérias e outros agentes entomopatogênicos. Essa barreira pode se tornar ineficiente com a mudança de temperatura, umidade e ocorrência de ferimentos na superfície do inseto, permitindo a entrada até mesmo de certos patógenos que normalmente não usaria essa forma de penetração (ALVES, 1998). Sem invadir o sistema digestivo do inseto, certos fungos provocam patologias que podem causar a morte do hospedeiro, liberando milhões de esporos de fácil dispersão, responsáveis por epizootias em um amplo círculo de hospedeiros, embora alguns grupos de entomopatógenos sejam altamente específicos.

Na classe Deuteromicota, encontra-se o maior número de espécies fúngicas utilizadas em controle microbiano de insetos, destacando-se as espécies *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Lecanicillium lecanii*. Também, espécies dos gêneros *Paecilomyces*, *Hirsutella*, *Entomophthora*, *Nomuraeae*, *Culicinomyces* e *Aschersonia* têm potencial para incorporação em programas de biocontrole (MANSILLA, 2007).

No tocante ao controle biológico de doenças de plantas, tem sido observado um crescente interesse, tanto no Brasil como em outros países, por bactérias e por fungos (incluindo leveduras), para conter diferentes tipos de patógenos, especialmente os de difícil controle. Controle biológico constitui um método alternativo particularmente interessante para uso em cultivos protegidos, não só devido ao alto valor desses vegetais, como também pela possibilidade de manipulação de parâmetros ambientais que podem alterar significativamente a eficácia dos agentes utilizados.

As condições climáticas adversas justificam as falhas ao se tentar manter no ambiente microrganismos aplicados como agentes de biocontrole em superfícies foliares, sobretudo em condições de campo, onde alterações de microclima pela manipulação humana são inviáveis. Nessas condições, o uso de agentes de biocontrole apresenta maiores chances de sucesso quando dirigido contra patógenos de solo, cujo ambiente mais estável favorece a persistência desses organismos.

Recentemente, ênfase tem sido dada a organismos endofíticos como agentes de controle biológico. Esses organismos, usualmente fungos e bactérias (SOUZA et al., 2004), que coabitam o interior de vegetais superiores (espaços intercelulares de células epidérmicas de raízes e tecidos vasculares), têm sido descritos como protetores contra o ataque do outros microrganismos, insetos e animais herbívoros, devido à produção de toxinas. Podem, ainda, produzir fitormônios, enzimas e outros compostos químicos; desse modo beneficiam a planta hospedeira, enquanto se desenvolvem no seu interior (PILEGGI, 2006). Os tecidos internos das plantas proporcionam ambiente relativamente uniforme quanto à distribuição de água e nutrientes; são livre de radiação ultravioleta e protegidos das flutuações de temperatura e umidade (RAMAMOORTHY et al., 2001).

Grande parte dos agentes bacterianos estudados para controle biológico de fitopatógenos, especialmente os causadores de doenças radiculares e de plântulas, encontra-se nos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*. Entre os demais, incluem-se *Agrobacterium radiobacter*, *Burkholderia cepacia* e actinomicetos. Geralmente são rizobactérias (colonizadoras da rizosfera e/ou rizoplano de plantas). Os mecanismos de ação dessas bactérias são diversos: produção de antibióticos e toxinas que reduzem o potencial de crescimento e infecção do patógeno, competição por sítios de infecção ou nutrientes requeridos pelo patógeno para penetrar o hospedeiro, estímulo de crescimento e vigor da planta e indução de mecanismos de resistência na planta (BLAKEMAN; FOKKEMA, 1982; BLAKEMAN et al., 1992; PUNJA, 1997; RAMAMOORTHY et al., 2001).

Espécies de *Pseudomonas* têm sido isoladas de diferentes solos e espécies de plantas (SOUZA, 2002). A habilidade natural de certos solos para suprimir doenças, em alguns casos, tem sido correlacionada com a presença de densidades relativamente altas de *Pseudomonas* produtoras de antibiótico. Como exemplos, citam-se as espécies *P. fluorescens* e *P. aureofaciens*, produtoras de fenazinas (PHZ), 2,4 diacetilfloroglucinol (2,4 DAPG), pirrolnitrina (PRN) e pioluteorina (PLT), às quais tem sido atribuída a supressão ao mal-do-pé-do-trigo causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, em diversas áreas geográficas do mundo (THOMASHOW et al., 1990; PIERSON III; PIERSON, 1996; SOUZA, 2002).

Espécies de *Bacillus* têm demonstrado grande potencial, também, para controle de patógenos foliares. Embora não sejam residentes do filoplano, quando atingem a parte aérea das plantas por meio de gotejamentos a partir do solo, podem persistir algum tempo neste habitat, onde demonstram habilidade, sobretudo, para colonizar ferimentos, inibindo a germinação, crescimento e formação de tubos germinativos de alguns fungos fitopatogênicos. *B. subtilis* tem sido a espécie mais efetiva para esse propósito e tem apresentado sucesso no controle da ferrugem-do-feijoeiro (*Uromyces phaseoli*) e do cancro-da-macieira (*Nectria galligena*), como também, no controle da podridão-marron-de-frutos (*Monilinia fructicola*), se aplicada antes da estocagem de pêssegos, nectarinas, abricós e peras (BLAKEMAN et al., 1992).

A grande maioria de fungos agentes de biocontrole de fitopatógenos que têm sido avaliados quanto à habilidade para reduzir doença de plantas pertence ao gênero *Trichoderma* (DE MARCO et al., 2000; LIMA, 2002; ETHUR et al., 2005; SILVESTRI, 2005). Introduzido há cerca de 200 anos (PERSOON, 1794), esse gênero constitui-se de espécies anamórficas, que podem ser encontradas em diversos habitats. Isolado a partir de amostras de solo e de estruturas de seus hospedeiros (esclerócios, por exemplo), pode ser manipulado em laboratório e aplicado em seu ambiente natural.

Fungos do gênero *Trichoderma* possuem características que os favorecem, em termos de sobrevivência, no ambiente e que, ao mesmo tempo, os tornam vantajosos como agentes de biocontrole: são saprófitas, apresentando rapidez na colonização de substrato, com exigências nutricionais mínimas; produzem clamidiósporos, que são estruturas de resistência para sobreviver sob condições climáticas adversas; produzem substâncias tóxicas (antibióticos), bem como enzimas degradadoras de parede celular de outros fungos (proteases, lipases etc), sendo ainda capazes de degradar vários carboidratos estruturais e não estruturais. Desse modo, não é surpresa que as espécies de *Trichoderma* sejam componentes dominantes da micoflora do solo.

Destacam-se, ainda, entre os fungos antagonistas, alguns já utilizados comercialmente e outros com potencial para desenvolvimento como biofungicidas: *Dicyma pulvinata* Arx para controle do mal-das-folhas-da-seringueira (MELLO et al., 2006), *Cladosporium fulvum* Cooke em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) e *Cercosporidium personatum* Earle, em amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (PERESSE; LE PICARDI, 1980; MITCHELL; TABER, 1986; MITCHELLl et al., 1986; MITCHELLl et al.,1987; TIRILLY, 1991); *Gliocladium roseum* Bain (ELAD et al., 1987) e levedurascomo *Ampelomyces quisqualis*, *Sporothrix* spp. e *Tilletiopsis* spp. (PUNJA, 1997) contra *Botrytis cinerea* Pers. em tomateiro, feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e flores ornamentais; *Coniothyrium minitans* contra *Sclerotinia* spp. em diversas culturas (PUNJA, 1997; LI et al., 2005); e espécies não patogênicas de *Pythium* contra patógenos do solo, tais como *Fusarium culmorum*, *Pythium aphanidermatum*, *P. ultimum* (DAVANLOU et al., 1999). Esses antagonistas podem ser aplicados diretamente no solo e em tratamento de sementes (microbiolização das sementes) ou por meio da inoculação de partes aéreas, como folhas e órgãos de propagação, a depender da parte da planta que se deseja proteger. Também, podem ter sua densidade populacional aumentada pela manipulação do ambiente.

Os mecanismos de ação utilizados pelos fungos incluem a produção de enzimas líticas e de antibióticos, parasitismo direto de propágulos do patógeno, competição por sítios de infecção no hospedeiro, água e nutrientes e indução de mecanismos de resistência.

A despeito da vasta literatura indicando o potencial de bactérias e fungos para controle biológico de patógenos no filoplano, o mais amplo uso (inclusive comercial) desses microrganismos tem sido para reduzir a ocorrência de doenças de plântulas, especialmente quando aplicados via tratamento de sementes e para suprimir doenças radiculares em cultivos protegidos, aplicados em misturas ao substrato de cultivo (PUNJA, 1997).

Os bioinseticidas representam o principal segmento de biopesticidas e compreendem uma ampla diversidade de microrganismos. As ações relacionadas ao desenvolvimento de biofungicidas representam uma área de pesquisa relativamente nova e têm mostrado grandes avanços, especialmente com espécies de fungos do gênero *Trichoderma*.

O uso de microrganismos vem recebendo, também, destacada atenção para controle de fitonematoides (JONATHAN et al., 2000), tanto quanto no tratamento das helmintíases gastrintestinais de interesse pecuário (MOTA et al., 2003).

Vários estudos têm demonstrado marcada ação de rizobactérias dos gêneros *Bacillus e Pseudomonas* e *A. radiobacter*, da bactéria *Pasteuria penetrans*, parasita de nematoides, e de alguns actinomicetos, especialmente contra os nematoides formadores de galhas (JONATHAN et al., 2000). Entretanto, os microrganismos mais promissores para controle de nematoides são fungos, pois esses são facilmente isolados dos solos e cultiváveis em diferentes substratos para incorporação ao substrato utilizado para produção vegetal. Segundo Ribeiro et al. (2003), os gêneros mais importantes classificados como predadores são: *Arthrobotrys* Corda, *Dactylella* Grove e *Monacrosporium* Oudemans. Esses fungos capturam

suas presas por meio de estruturas, adesivas ou não, produzidas em suas hifas.

O controle biológico de plantas daninhas, por sua vez, tem sido pesquisado há vários anos. Existem mais de 100 patógenos de plantas daninhas relatados. A maioria dos bioherbicidas que tem logrado chegar ao mercado é à base de fungos. Porém, o sucesso desses produtos tem sido limitado, devido a sua inabilidade para competir com os químicos. Além disso, os custos para produção e registro, aliados às limitações ambientais para o desenvolvimento de micoherbicidas, tornam incerta a disponibilização futura desses produtos no mercado (GHOSHEH, 2005).

Um aspecto fundamental no desenvolvimento de novos biopesticidas é a descoberta de estirpes com maior atividade ou mais adaptadas às condições ambientais onde esses produtos serão utilizados. Daí a necessidade de manutenção de um fluxo contínuo de coleta, isolamento, caracterização e avaliação de agentes de biocontrole. Características desejáveis nos organismos de interesse podem ser introduzidas ou potencializadas, utilizando-se técnicas da biologia molecular, associadas à engenharia genética.

Microrganismos em Ambientes Extremos

O estudo de microrganismos e de suas enzimas resistentes a condições extremas, como os hipertermófilos, tem trazido grande impulso ao desenvolvimento biotecnológico. Um exemplo é a aplicação dessas enzimas, em técnicas de biologia molecular, podendo ser citadas a Taq polimerase, isolada de *Thermus aquaticus*, utilizada nas reações de amplificação de DNA (técnica de PCR) e a DNA polimerase, ainda mais resistente a altas temperaturas, isoladas de *Pyrococcus furiosus* (MELO, 2002).

Os microrganismos do domínio Archaea não são os únicos organismos que toleram condições ambientais extremas. Diversos fungos,

bactérias e algas azuis ou cianobactérias (bactérias fitossintetizantes) também possuem mecanismos genéticos adaptativos, que lhes permitem viver dentro de limitações físico-químicas de ecossistemas adversos, com baixas ou altas temperaturas, baixa disponibilidade de água e altos níveis de radiações como nos desertos, em solos e rochas das regiões gelados do globo, em lagos extremamente salgados, como o Mar Morto, ou em solos com altas concentrações de sal, resultante da irrigação, e, ainda, áreas degradadas, com altos níveis de compostos tóxicos. A exploração desses habitats, a partir do conhecimento dos mecanismos reguladores que esses microrganismos possuem, é uma tarefa importante para os microbiologistas, pois oferece a oportunidade de identificar microrganismos para uso em processos biocatalizadores específicos e no manejo sustentável dos diversos ecossistemas.

Ademais, o estudo dos microrganismos extremófilos que habitam as fontes termais, gêiseres, rochas profundas, sedimentos marinhos abissais, geleiras permanentes, águas alcalinas ou ácidas, áreas contaminadas com dejetos radioativos etc. tem permitido conhecer os limites e a continuidade da vida sobre a terra. Essa informação vem, desse modo, abrindo frentes para novas possibilidades na busca de vidas extraterrestres (GUERRERO, 2006).

Referências

ALVES, S. B. A. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. In: ALVES, S. B. A. (Ed.). **Controle microbiano de insetos.** 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 39-169.

ALVES, S. B. A.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO JUNIOR, A.; ALVES, L. F. A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S. B. A. (Ed.). **Controle microbiano de insetos.** 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 637-764.

ARAÚJO, J. M. Estratégias para isolamento seletivo de actinomicetos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana**. (Ed.). Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. p. 352-367.

BELK, R. M.; KHAN, S. U. Degradation of Atrazine by *Pseudomonas:* N-Dealkylation and Dehalogenation of Atrazine and Its Metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, p. 746-749, 1986.

BELK, R. M.; KHAN, S. U. Degradation of Atrazine, Propazine, and Simazine by *Rhodococcus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1237-1241, 1994.

BLACK, J. G. **Microbiologia:** fundamentos e perspectivas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 829 p.

BLAKEMAN, J. P.; BROWN, A. E.; MERCER, P. C. Biological control of plant diseases – present and future trends. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 151-164, 1992.

BLAKEMAN, J. P.; FOKKEMA, N. J. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. **Annual Review of Phytopathology,** v. 20, p. 167-192, 1982.

BULL, A. T.; GOODFELLOW, M.; SLATER, J. H. Biodiversity as a source of innovation in biotecnnology. **Annual Review of Phytopathology**, v. 46, p. 219-25, 1992.

CAI, Y.; BENNO, Y.; TAKEDA, A.; YOSHIDA, T.; JLTAYS, T.; NAKASE, T. Characterization of Leuconostoc species isolated from vacuum-packaged ham. **Journal of General and Applied Microbiology,** v. 44, p. 153-159, 1998.

CASTELO BRANCO JUNIOR, A. Protozoários entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos.** Piracicaba: FEALQ/USP, 1998. p. 571-603.

COLEMAN, D. C. Through a ped darkly: An ecological assessment of root-soil-microbial-fauna! interactions. In: FITTER, A. H.; ATKINSON, D.; READ, D. J.; USHER, M. B. (Ed.). **Ecological Interactions in Soil**. Cambridge: Blackwell Scientific Publications, 1985. p. 1-21.

CORLISS, J. O. Classification of Protozoa and Protists: the current status. In: **EVOLUTIONARY Relationships Among Protozoa**. London: Chapman & Hall, 1998. p. 410-447.

CORLISS, J. O. Have the protozoa been overlooked? **BioScience,** v. 51, n. 6, p. 424-5, 2001.

DAVANLOU, M.; MADSEN, A. M.; MADSEN, C. H.; HOCKENHULL, J. Parasitism of macroconidia, clamydospores and hyphae of *Fusarium culmorum* by mycoparasitic *Pythium* species. **Plant Pathology**, v. 48, p. 352-359, 1999.

DE MARCO, J. L.; LIMA, L. H. C.; SOUSA, M. V.; FELIX, C. R. A *Trichoderma harzianum* chitinase destroys the cell wall of the phytopathogen *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cocoa. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 16, p. 383-386, 2000.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods.** Boca Raton: CRC Press, 1981. 355 p.

DIANESE, J. C.; DIANESE, E. Fungos do Vale do São Francisco: capital biológico a ser explorado. In: COMPANHIA DO DESENVOLVIMENTO DOS VALES DO SÃO FRANCISCO E DO PARNAÍBA - CODEVASF. **Zoneamento ecológico – econômico do Vale do São Francisco:** estudos dos meios bióticos e abióticos. Brasília, DF: Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos, 2002.

ELAD, Y.; KOHL, J.; FOKKEMA, N. J. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. **Phytopathology**, v. 84, p. 1193-1200, 1987.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A. C. F.; STEFANELO, D. R.; ROCHA, E. K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufas. **Fitopatologia brasileira**, v. 30, p. 27-133, 2005.

FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. **Virus Taxonomy**: classification and nomenclature of viruses. Amsterdam: Eselvier Academic Press, 2005. 1259 p. Eighth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses.

FEDERICI, B. A. Baculovirus pathogenesis. In: MILLER, L. K. (Ed.). **The Baculoviruses.** New York: Plenum Press, 1997. p. 33-56.

FONT DE VALDEZ, G.; MARTOS, G. I. Biodiversidad de bacterias lácticas: conservación ex situ de cepas autóctonas argentinas. **Agrociencia,** v. 9, n. 2, p. 431-434, 2005.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for diseases suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 243-270, 2004.

GARRO, M. S.; VALDEZ, G. F. de; GIORI, G. S. de. Temperature effect on the biological activity of *Bifidobacterium longum* CRL 849 and *Lactobacillus fermentum* CRL 251 in purê and mixed cultures grown in soymilk. **Food Microbiology**, v. 21, p. 511-518, 2004.

GHOSHEH, H. Z. Constraints in implementing biological weed control: a review. **Weed Biological and Management,** v. 5, p. 83-92, 2005.

GIBBS, A. J.; GIBBS, M. J. A broader definition of 'the virus species'. **Archives of Virology,** v. 151, p. 1419-1422, 2006.

GODINHO, J. L.; REGALI-SELEGHIM, M. H. Diversidade no reino protista. In: JOLY, C. A.; BICUDO, C. E. de M. (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil**: síntese do conhecimento ao final do século XX. São Paulo: FAPESP, v. 1, p. 85-91, 1999.

GRANADOS, R. R.; WILLIAMS, K. A. In vivo infection and replication of baculoviruses. In: GRANADOS, R. R.; FEDERICI, B. A. (Ed.). **The Biology of Baculoviruses**. Boca Raton: CRC Press, 1986. v.1, p. 89-108.

GRANDCOLAS, P. Systematics, endosymbiosis, and biogeography of *Cryptocercus clevelandi* and *C. punctulatus* (Blattaria: Polyphagidae) from North America: a phylogenetic perspective. **Annals of the Entomological Society of America,** v. 92, n. 3, p. 285-291, 1999.

GUERRERO, R. Fronteras en ecología microbiana: desde los orígenes a la astrobiología. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGIA, Pucón, Chile, 2006. **Resumenes…** Pucón, Chile. p.10.

HAJEK, A. E. **Natural Enemies**: an introduction to biological control. Cambridge: Cambridge University Press, 2004. 394 p.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research,** v. 95, p. 641-645, 1991.

HEAD, I. M.; CAIM, R. B.; SUETT, D. L. Molecular aspects of enhanced microbial degradation of pesticides. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCEPESTS AND DISEASES, 3., 1990, **Proceedings...** p. 907-916.

HENRY, J. E. Control of insects by protozoa. In: BAKER, R. R.; DUN, P. E. (Ed.). **New directions in biological control**: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. New York: Alan R. Liss, 1990. p. 161-76.

HERNIOU, E. A.; OLSZEWSKI, J. A.; CORY, J. S.; O'REILLY, D. R. The genome sequence and evolution of baculoviruses. **Annual Review of Entomology,** v. 48, p. 211-234, 2003.

JONATHAN, E. I.; BARKER, D. R.; ABDEL-ALIM, F. F.; VRAIN, T. C; DICKSON, D.W. Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato and banana with rhizobacteria, actinomycetes, and *Pasteuria penetrans*. **Nematropica**, v. 30, p. 231-240, 2000.

KIRK, P. M. Classification of the fungi. In: KIRK, P. M. **Introduction to fungal identification, classification and nomenclature**. (Session 3). [Wallingford]: CABI Bioscience, 2001. (Internacional Course on the Identification of Fungi of Agricultural and Environmental Significance).

KITAJIMA, E. W. Perspectivas de controle biológico de insetos por vírus no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura,** v. 8, p. 65-71, 1986.

KOIVULA, A.; KINDER, M.; TEERI, T. T. Structure: function relationships in Trichoderma cellulolytic. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. (Ed.). **Trichoderma & Gliocladium**: enzymes, biological control and commercial applications. London: Taylor and Francis,1998. v. 2, p. 3-23.

KOMAGATA, K. **Microbial diversity and the role of culture collections.** Disponível em: <http:// www.iupac.org/symposia/proceedings/phuket97/ Komagata.html>. Acesso em: 07 jan. 2007.

LANGE, C. E. Uso de protozoos en el manejo de plagas: entomopatogenos microsporidianos de insectos terrestres. In: CONGRESSO ARGENTINO DE ENTOMOLOGIA, 1., 1990, Argentina. [**Anais**...]. Argentina, 1990. p.181-187.

LERECLUS, D.; DELÉCLUSE A.; LECADET M. M. Diversity of *Bacillus thuringiensis* Toxins and Genes. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J.; HIGGS S. ***Bacillus thuringiensis*, an environmental Biopesticide**: theory and practice. 1992. p. 36-69.

LI, G. Q.; HUANG, H. C.; ACHARYA, S. N.; ERICKSON, R. S. Effectiveness of *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma atroviride* in suppression of *Sclerotinia* blossom blight of alfalfa. **Plant Pathology**, v. 54, n. 2, p. 204-211, 2005.

LIANG, C. Y.; WANG, H. Z.; LI, T. X.; HU, Z. H.; CHEN, X. W. High efficiency gene transfer into mammalian kidney cells using baculovirus vectors. **Archives of Virology**, v. 149, p. 51-60, 2003.

LIMA, A. L. **Caracterização morfológica, molecular e bioquímica de *Trichoderma* spp. isoladas de solo de cerrado.** 2002. 74 f. Tese (Doutorado). Universidade de Brasília, Brasília, DF.

LIPA, J. J. Studies on gregarines (Gregarinomorpha) of arthropods in Poland. **Acta Protozoology**, v. 5, p. 97-101, 1967.

MACHADO, K. M. Enzimas lignolíticas e a biodegradação de compostos orgânicos poluentes. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICOLOGIA, 5., 2005, Brasília, DF. **Anais**... Brasília, DF. p. 168.

MAGNANI, G. de S. **Diversidade de bactérias endofíticas em cana de açúcar.** 2005. 64 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MANSILLA, A. A. H. **Contribución al manejo fitosanitario de aleyrodidos y coccoideos mediante el estudio del comportamiento de las especies de Aschersonia en Ciego de Ávila.** 2007. 74 f. Tesis en Opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Habana, Cuba.

MARKS, H.; MENNENS, M.; VLAK, J. M.; VAN HULTEN, M. C. W. Transcriptional analysis of the white spot syndrome virus major virion protein genes. **Journal of General Virology**, v. 84, p. 1517-1523, 2003.

MARTINS, F. S; TIAGO, F. C. P.; BARBOSA, F. H. F.; PENNA, F. J.; ROSA, C. A.; NARDI, R. M. D.; NEVES, M. J.; NICOLI, J. R. Utilização de levaduras como probióticos. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 5, n. 2, 2005. Disponível em: <http://www.uepb.edu.br/eduep/rbct/sumarios/pdf/leveduras/pdf.> Acesso em: 07 jan. 2007.

MATHEUS, D. R. Biorremediação ambiental por fungos. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICOLOGIA, 5., 2005, Brasília, DF. **Anais**... Brasília, DF. p. 167-168.

MELLO, S. C. M.; SANTOS, M. F.; SILVA, J. B. T. Isolados de *Dicyma pulvinata* em estromas de *Microcyclus ulei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v. 41, p. 359-363, 2006.

MELO, I. S. Recursos genéticos microbianos. In: MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C.; NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: microrganismos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2002. p.1-48.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Como isolar microrganismos degradadores de moléculas xenobióticas**.** In: MELO, I. S., AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1997. p. 167-183.

MILLER, L. K. (Ed.). **The Baculoviruses.** New York: Plenum Press, 1997. 447 p.

MILLER, L. K. Baculoviruses as gene expression vectors. **Annual Review of Microbiology,** v. 42, p. 177-199,1988.

MITCHELL, J. K.; SMITH, D. H.; TABER, R. Potential for biological control of *Cercosporidium personatum* leafspot of peanuts by *Hansfordia pulvinata*. **Canadian Journal of Botanic,** v. 65, p. 2263-2269, 1987.

MITCHELL, J. K.; TABER, R. Factors affecting the biological control of *Cercosporidium* leaf spot peanuts by *Hansfordia pulvinata*. **Phytopathology**, v. 76, p. 990-994, 1986.

MITCHELL, J. K.; TABER, R.; PETTIT, R. E. Establishment of *Hansfordia pulvinata* in *Cercosporidium personatum* leaf spot of peanuts: Effect of spray formulation, inoculation time, and hours of leaf wetness. **Phytopathololgy,** v. 76, p. 1168-1171, 1986.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera. **Annual Review Entomology**, v. 44, p. 257-289, 1999.

MOSCARDI, F.; SANTOS, B. Produção comercial do nucleopoliedrovirus de *Anticarsia grmmatalis* Hubner (Lep.: Noctuidae) em laboratório. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., Recife. **Anais...** Recife, 2005. p. 42.

MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 3, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttexty&ód=S0100-736X2003000300001&Ing> . Acesso em: 30 jan. 2007.

NIGAM, N.; MUKERJI, K. G. Biological control – concepts and practices. In: MUKERJI, K. G.; GARG, K. L. (Ed.). **Biocontrol of plant diseases.** Boca Raton: CRC Press, 1986. p. 1-13.

PAL, K. K., MCSPADDEN G. B. Biological control of plant pathogens. **The Plant Health Instructor**. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02. 2006.

PEPPER, I. L.; GERBA, C. P.; BRUSSEAU, M. L. (Ed.). **Pollution science**. London: Academic Press, 1996. 397 p.

PERESSE, M.; LE PICARD, D. *Hansfordia pulvinata*, mycoparasite destructeur du *Cladosporium fulvum*. **Mycopathologia,** v. 71, p. 23-30, 1980.

PERSOON, C. H. Dipositio methodica *fungorum*. **Romer's Neues Magazin Botanische,** v. 1, p. 81-128, 1794.

PFENNING, L. H. Potencial de uma rede de coleções de microrganismos: Fungos de interesse agroindustrial e biotecnológico. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., 2001, Londrina. **Anais...** 2001. p. 159-162.

PIERSON III, L. S.; PIERSON, E. A. Phenazine antibiotic production in *Pseudomonas* aureofaciens: role in rhizosphere ecology and pathogen suppression. **FEMS Microbiology Letters**, v. 136, n. 2, p. 101-108, 1996.

PILEGGI, S. A. **Isolamento e caracterização de microrganismso endofíticos de *Maytenus ilicitolia* Mart. Ex Reiss. por meio de marcadores RAPD e seu potencial farmacológico.** 2006. 125 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

POLANCZYK, R.; ALVES, S. Bacillus thruringiensis: uma breve revisão. **Agrociência**, v. 7, p.1-10, 2003.

PUNJA, Z. K. Comparative efficacy of bacteria, fungi and yeasts as biological control agents for diseases of vegetable crops. **Canadian Journal of Plant**, v. 19, p. 315-323, 1997.

RAMAMMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Introduction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pest and diseases. **Crop Protection**, v. 20, p. 1-11, 2001.

RIBEIRO, R. C. F.; RODRIGUES, T. T. M. S.; XAVIER, A. A.; GOMES, L. I. S. Ocorrência de fungos predadores de nematóides sob solos de bananais, no norte de Minas Gerais. **UNIMONTES CIENTÍFICA**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2003.

ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiology Review**, v. 25, n.1, p. 39-67, 2001.

SFREDDO, E. S.; SÁNCHEZ, M. L.; NACIF, N.; ANDRÉ, S.; DEDIOL, C.; FERRER, L.; FARRANDO, S.; DOTTO, A. Recursos genéticos microbianos para la industria olivícola d ela província de Mendonza (Argentina). **Agrociencia**, v. 9, n. 2, p. 401-408, 2005.

SILVA, S. F.; MONNERAT, R. G. Identificação de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra lepidópteros e dípteros. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina. p. 494-495.

SILVESTRI, P.; RIBEIRO, R. T. S.; VALDERBENITO-SANHUEZA, R. M.; BARROS, N. M. Alternativas de controle de *Rhizoctonia* sp. no morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v. 31, p. 153-157, 2005.

SOUZA, A. O.; PAMPHILE, J. A.; ROCHA, C. L. S. C.; AZEVEDO, J. L. Plant-microbe interactions between maize (*Zea mays* L.) and endophytic microorganisms observed by scanning electron microscopy. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 26, n. 3, p. 357-359, 2004.

SOUZA, J. T. **Distribution, diversity, and activity of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp.** 2002. 165 f. Thesis. Wageningen University, The Netyherlands.

SPRAGUE, V. Microspora. In: PARKER, S. P. (Ed.). **Synopsis and classification of living organisms.** New York: McGraw-Hill, 1982. v. 1, p. 589-590.

SZEWCZYK, B.; HOYOS-CARVAJAL, L.; PALUSZEK, M.; SKRZECZ, I.; SOUZA, M. L. Baculoviruses-re-emerging biopesticides. **Biotechnology Advances,** v. 24, p.143-160, 2006.

TANADA, Y.; KAYA, H. K. **Insect Pathology.** California: Academic Press, 1993. p. 388-413.

TANI, H.; LIMN, C. K.; YAP, C. C.; ONISHI, M.; NOZAKI, M.; NISHIMUNE Y.; OKAHASHI, N.; KITAGAWA, Y. In vitro and in vivo gene delivery by recombinant baculoviruses. **Journal of Virology**, v. 77, p. 9799-9808, 2003.

THEILMANN, D. A.; BLISSARD, G. W.; BONNING, B.; JEHLE, J.; O'REILLY, D. R.; ROHRMAN, G. F.; THIEM, S.; VLAK, J. M. Family *Baculoviridae*. In: FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. **Virus taxonomy**: eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. London: Elsevier, [19--?]. p. 177-185.

THOMASHOW, L. S.; WELLER, D. M.; BONSALL, R. F.; PIERSON III, S. S. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent p*seudomonas* species in the rhizosphere of wheat. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 908-912, 1990.

TIRILLY, Y. The role of fosetyl- A1 in the potential integrated control of *Fulvia fulva*. **Canadian Journal of Botanic**, v. 69, p. 306-310, 1991.

UETA, J.; PEREIRA, N. L.; SHUHAMA, I. K.; CERDEIRA, A. L. **Biodegradação de herbicidas e biorremediação microrganismos degradadores do herbicida atrazina**. Disponível em: <http://www.herbario.com.br/bot/toxicologia/biodegre.htm.> Acesso em: 07 jan. 2007.

UNDEEN, A. H.; VÁVRA, J. Research methods for entomopathogenic Protozoa. In: LANDEY, L. (Ed.). **Manual of techniques in insects pathology**. New York: Academic Press, 1997. p. 117-51.

WETZEL, M. M. V. S.; BUSTAMANTE, P. G. **Sistema de curadoria de germoplasma.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 44 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 53).

WHITTAKER, R. H. New concepts of kingdoms of organisms. **Science,** v. 163, p. 150-160, 1969.

WOESE, C. R. Bacterial evolution. **Microbiological Reviews**, v. 51, n. 2, p. 221-271, 1987.

ZANOTTO, P. M. D.; KESSING, B. D.; MARUNIAK, J. E. Phylogenetic interrelationships among baculoviruses: evolutionary rates and host associations. **Journal of Invertebrate Pathology,** v. 62, p. 147-164, 1993.

18

Conceitos de Manejo de Fauna e o Exemplo da Capivara

José Roberto Moreira
Ubiratan Piovesan

Introdução

Podemos resumir os objetivos de manejo de populações de animais silvestres em três diferentes alvos: (a) o aumento de uma população em declínio e/ou que esteja ameaçada de extinção; (b) a exploração de uma população para obtenção de uma produção sustentável; e (c) a redução da densidade de uma população-problema cujo tamanho encontra-se acima do desejável (CAUGHLEY, 1977). Muitas populações de capivaras no Brasil se enquadram em um desses três alvos de manejo descritos. A cada dia se faz mais necessário o desenvolvimento de técnicas de manejo, levantamento e monitoramento da espécie no Brasil. O objetivo deste trabalho é a apresentação de conceitos de política de manejo de fauna, de base teórica de manejo de populações animais e do atual estado dos conflitos capivara-homem no Brasil.

Política de Manejo

Todo manejo de vida silvestre deve seguir uma hierarquia de decisão composta de três componentes: (1) a escolha da política pública; (2) a escolha do objetivo técnico; e (3) a escolha da ação de manejo necessária (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994). Como exemplo de política pública, podemos supor: evitar a redução da produção agrícola do Rio Grande do Sul (RS) causada por pragas. Para o objetivo técnico, podemos dar como exemplo: reduzir em 80% o impacto da capivara na lavoura do Rio Grande do Sul. Finalmente, como exemplo de ação de manejo, especulamos: abater 50% da população de capivara em áreas problema do Rio Grande do Sul. Esses componentes hierárquicos encontram-se intimamente interligados e, ainda que o fluxo de decisão flua do geral para o específico, todos os níveis de decisão devem ser levados em consideração para que se chegue a um produto viável.

Políticas públicas normalmente são definidas em termos gerais e servem apenas como linhas a serem seguidas pelo profissional de manejo de fauna. Porém, existem dois tipos de metas políticas que devem ser evitadas (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994): (1) aquela em que falta definição clara de política pública de manejo de fauna, pois é uma forma de agências públicas não se comprometerem rigidamente com uma linha de ação; e (2) a política pública inviável, que é ainda mais danosa. Sua inviabilidade caracteriza-se por buscar atender a dois objetivos contrastantes, incompatíveis, ou que exijam ações de manejo inatingíveis.

Para o sucesso de uma política de manejo de fauna, é fundamental que sejam definidos critérios de avaliação do sucesso de sua ação de manejo, os quais devem ser definidos na forma de critério de insucesso e de maneira mensurável (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994). Deve ser colocado da seguinte forma:

"A operação será julgada fracassada e será, portanto, terminada, se o resultado *X* não for atingido no tempo *T*".

O manejo da vida silvestre só pode progredir se a decisão técnica e o tratamento apropriado forem apresentados de maneira que os seus resultados possam ser avaliados na forma de uma hipótese testável. O manejo deve ser delineado em bases experimentais e hipóteses devem ser formuladas, para que seus resultados gerem conclusões que auxiliem no aumento do conhecimento sobre aquela população e sobre o método utilizado (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994). Assim, é possível se aprender mais sobre nossos fracassos, bem como sobre os nossos sucessos nas técnicas de manejo adotadas.

Princípios de Manejo Sustentável

Existem alguns aspectos teóricos sobre sustentabilidade de manejo de fauna que é muito importante conhecer, pois são úteis na aplicação prática. O manejador de capivaras pode utilizar esse conhecimento caso submeta uma população a manejo, seja ele para controle, produção ou conservação.

O crescimento de uma população é determinado pela relação com os recursos dos quais necessita (BEGON; MORTIMER, 1986). Essa relação muitas vezes está intimamente ligada à disponibilidade de alimento, mas também a outros recursos necessários, como abrigo, local de acasalamento, parceiro para acasalar, espaço, corpo d'água etc. Atividades de manejo geralmente implicam na alteração da taxa de crescimento (ou tamanho) populacional, seja aumentando-o (manejo para conservação ou exploração), seja reduzindo-o (manejo para controle).

Quando os recursos necessários para o crescimento de uma população se encontram em disponibilidade ilimitada (teoricamente), ela pode crescer indefinidamente em sua taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m). Dessa forma população apresenta um crescimento exponencial (CAUGHLEY, 1977). Porém, quando há competição entre indivíduos pelo uso dos recursos necessários para essa população, ela cresce em r_m até atingir o nível em que os recursos passam a ser limitantes para

o seu crescimento e, então, estabiliza. Essa interrupção no crescimento populacional é causada pelo aumento da mortalidade ou pelo decréscimo da natalidade (ou ambos) com o aumento da densidade populacional. As causas dessas mudanças são chamadas de *fatores dependentes de densidade*. A representação gráfica do crescimento de uma população limitada por um recurso não consumível é uma curva de crescimento logístico (Figura 1). Quando os recursos limitantes são consumíveis, o tamanho populacional tende a crescer e decrescer variando de acordo com a disponibilidade desse recurso (CAUGHLEY, 1977).

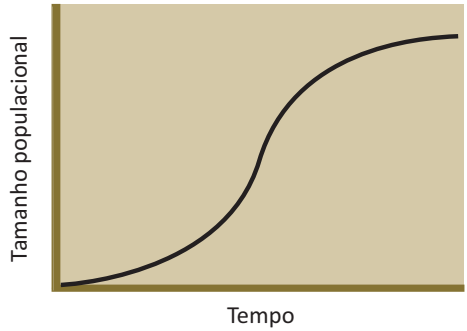


Figura 1. Curva de crescimento logístico.

A técnica mais simples para se alcançar o manejo sustentável de uma espécie, caso esteja sendo manejada para controle ou produção, é a remoção de parte da população no mesmo percentual de sua taxa de crescimento. Se uma população de 200 animais cresce para 240 em um ano (cresceu 20%), extraem-se 40 animais (20%) dessa população. Pode-se concluir que, quanto maior é a taxa de crescimento de uma população, maior o percentual da mesma que se pode explorar. Uma população pode ser estimulada a crescer caso se aumente o volume de recursos essenciais disponíveis para os animais. A forma mais fácil de aumentar a disponibilidade de recursos para cada indivíduo é a remoção de uma parcela dessa população. Cada indivíduo que permanece na população passa a ter mais recursos a seu dispor e a consequência é o aumento da fertilidade e redução na mortalidade, especialmente de jovens.

Também podemos concluir que, quanto menor for o tamanho populacional, maior será o volume de recursos disponíveis para cada indivíduo e maior será a taxa de crescimento populacional. Portanto, maior será a taxa de exploração sustentável a que essa população pode ser submetida. Assim, uma população pequena cresce muito e pode ser submetida a uma alta taxa de exploração. O inverso também é verdadeiro. Entretanto, não é interessante explorar muito de uma população pequena, nem pouco de uma população grande. Em ambos os casos, a produção é pequena. A produção máxima sustentável (PMS) de uma população encontra-se em um ponto intermediário entre esses dois extremos. Também é importante perceber que, para se obter uma determinada produção sustentável (dada em número de animais abatidos), existem dois possíveis tamanhos de população (fora a PMS). Como exemplo, uma pequena população de 100 animais que apresenta uma taxa de crescimento de 50% produzirá os mesmos 50 animais que uma população de 1.000 animais que apresenta uma taxa de crescimento de 5%. Na Figura 2, resume-se a lógica aqui descrita.

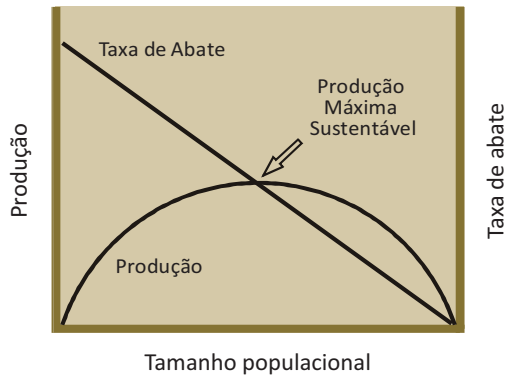


Figura 2. Taxa sustentável de abate e produção sustentável em relação à tamanho populacional.

Também se pode perceber que, se por um lado, a utilização da taxa de crescimento populacional é a maneira mais fácil e confiável de se explorar uma população de forma sustentável, utilizá-la como a única

ferramenta para a escolha da taxa de abate pode levar à subexploração dessa população. Por outro lado, explorar uma população na sua PMS é muito arriscado e pode levar a população à extinção, caso o ambiente não esteja no seu máximo de produção ou algum erro tenha sido cometido no cálculo do tamanho populacional. Geralmente, é mais confiável explorar uma população a uma taxa de abate fora da PMS. Uma margem de segurança de 25% é recomendável (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994). Levando-se em consideração que existem dois tamanhos populacionais possíveis para se atingir uma mesma produção sustentável, é recomendável o uso do tamanho superior. Manter a população a números mais elevados reduz o risco da população ser levada à extinção, bem como facilita a captura dos animais. Utilizando o exemplo anterior, é bem mais fácil capturar 50 animais de 1.000 do que de 100.

Uma população que não vem sendo explorada há muitos anos e que encontra-se estável apresenta uma taxa de crescimento igual a zero. A menos que essa população seja estimulada a crescer, ela não pode ser explorada. Como já foi visto, a melhor maneira de estimular uma população a crescer é remover uma parcela dessa população; isso é conhecido por "redução capital" (CAUGHLEY, 1977). Após a remoção, a população volta a crescer. Portanto, para populações que apresentam crescimento zero, é necessário, primeiro, aplicar uma redução capital para estimulá-la a crescer e, só então, passar a manejá-la de maneira sustentável.

Manejo de População-problema

É importante perceber que a exploração sustentável de uma população animal tem objetivos contrastantes com o manejo de uma população-problema. Por um lado, a exploração sustentável visa à maximização da produção animal, que é representada em número de animais extraídos da população (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994). Para tal, ela busca o au-

mento do crescimento populacional a um nível que maximize o número de animais produzidos por uma dada população.

Por outro lado, o manejo de uma população-problema visa à redução do dano por ela causado. Os objetivos técnicos do manejo da população-problema devem ser explicitados clara e adequadamente. O sucesso de sua implementação tem que ser medido como percentual de redução do dano causado pela espécie (ex.: redução das perdas agrícolas para até 5%) e não em termos do número (ou percentual) de animais extraídos da população-problema. Portanto, o controle é o meio e não o objetivo da ação de manejo. Consequentemente, ainda que tenha semelhanças com o manejo sustentável, o manejo de populações-problema é mais complexo.

O manejo de populações-problema pode ser necessário para populações que se encontrem em duas diferentes situações: (1) O controle de uma população que se encontre fora de seu sistema normal; e (2) a redução de uma população que se encontre fora de seu tamanho desejável. A primeira situação trata da necessidade de controle de uma população que apresenta uma explosão em seu número, que se encontra fora de sua estabilidade natural. Nesse caso, a ação de manejo é temporária, pois visa apenas restabelecer o estado normal dessa população (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994).

Já a segunda situação exige manejo contínuo. É o caso de uma população que se encontra em seu estado normal, estável, mas esse não é o desejável. Mesmo em seu estado estável, essa população pode estar trazendo danos econômicos ou estéticos ao homem ou a sua propriedade. O tamanho dessa população deve ser reduzido e mantido nesse nível por manejo contínuo.

Existe ainda um terceiro significado para a palavra "controle" no manejo da vida silvestre. Trata-se do tratamento controle de um experimento de manejo. Como, geralmente, a ação de manejo de um tratamento controle é justamente a inexistência de controle, isso pode causar confusão (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994).

Como exemplo daquilo que ocorre quando remove-se parte de uma população submetida a manejo produtivo, cita-se o aumento da disponibilidade de recursos necessários para uma população que é reduzida por medidas de controle. Essa população também tem aumentada a sua taxa de fertilidade e de sobrevivência, que geram um aumento na taxa de crescimento populacional. O efeito do estímulo de crescimento populacional causado pela remoção de uma parcela da população é desejável para um manejo produtivo, mas age contra o sucesso do manejo para controle. Consequentemente, o controle de uma população-problema tem que ser permanente e contínuo.

Diversos questionamentos devem ser feitos antes de se iniciar qualquer ação de controle de uma população (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994; BREWER, 2001; PEHLING, 2003). O primeiro deles está relacionado à real necessidade de controle. Qual seria o nível de dano caso nenhum controle fosse realizado? A questão seguinte está relacionada ao custo/benefício do controle. Quais são os benefícios do controle versus prejuízos do dano versus custo do controle? Em outras palavras, qual é o limite econômico ou estético para que a ação de controle seja necessária? Outra questão está relacionada às consequências do controle, seja para o meio ambiente, seja para espécies não-alvo. Finalmente, a última questão está relacionada às causas do dano. Seria espécie-alvo escolhida a principal causadora do dano?

Os métodos de controle podem ser divididos em: (1) controle mecânico; (2) controle biológico; (3) controle químico; e (4) de sanidade. O controle mecânico pode agir na remoção de animais da população com o uso de armadilhas; tiro; atração visual ou sonora para armadilhas e repelência visual e sonora. O controle mecânico também pode ocorrer com o uso de barreiras que impedem a passagem dos animais. Métodos de controle biológico para vertebrados sãoo uso de predadores, agentes patogênicos e ainda a introdução de reprodutores inférteis na população. O controle químico também age na remoção de animais da população ou

na sua fertilidade. Medidas sanitárias agem na redução da disponibilidade de alimentos e abrigos para a espécie-praga (MICHIGAN STATE UNIVERSITY, 1991).

A Capivara como Espécie-problema

Uma característica normalmente encontrada entre espécies-problema é a sua alta prolificidade. A capivara, ao contrário do apresentado por outras espécies da superfamília Cavioidea, da qual faz parte, exibe alta fecundidade. O nicho trófico de que se utiliza submeteu a espécie a extrema seleção ***r*** (KLEIMAN et al., 1979), o que a levou a atingir tamanho de ninhada maior (média de 4 filhotes) que aquele esperado para seu peso corporal (média de 52,4kg no animal adulto). Isso reflete na rapidez do crescimento populacional da espécie.

Outra característica comumente apresentada por espécies-problema é serem generalista. Essas espécies podem sobreviver em um grande espectro de tipos de clima e de vegetação e se adaptar a diferentes alimentos e condições ambientais. Como consequência, são espécies mais tolerantes, ou mesmo, que se beneficiam das alterações ambientais causadas pelo desenvolvimento humano. Espécies generalistas geralmente podem se dispersar com facilidade e viver em pequenos fragmentos isolados (MATLACK, 1994). Ainda que tenha hábito alimentar herbívoro, a capivara pode utilizar uma enorme gama de alimentos. Sua área de distribuição se estende desde a região tropical até a temperada. A capivara ocupa os mais diferentes habitats, desde matas ciliares, savanas sazonalmente inundáveis a manguezais salobros, em altitudes variando desde o nível do mar até 1.500 m (MOREIRA; MACDONALD, 1997). A progressiva conversão das florestas neotropicais em pasto para o gado potencialmente aumenta o habitat das capivaras (OJASTI, 1991).

A capivara é uma espécie herbívora que tem preferência por capins aquáticos ou ricos em proteína. Seus incisivos de roedor permitem o consumo de capins baixos e suas adaptações à vida na água proporcionam o acesso a habitats por vezes não utilizados pelo gado. Porém, já está comprovado que a capivara compete por alimento com espécies domésticas, especialmente durante o fim da estação seca, quando a disponibilidade de forragem é baixa (ESCOBAR; GONZÁLEZ-JIMÉNEZ, 1976). Pode, também, se tornar praga de plantações de cana-de-açúcar, milho, arroz, sorgo, banana, feijão, soja, mandioca, abóbora, melancia, melão e outras culturas (MOREIRA; MACDONALD, 1996). A Superintendência Regional do Ibama do Estado de São Paulo recebe, em média, 22 reclamações por ano relacionadas a problemas com capivaras. A maioria dessas reclamações refere-se a danos agrícolas causados pela espécie.

Em diversas regiões do País, a cada dia está se tornando mais comum o conflito capivara-homem por espaço e recursos do ambiente, em razão do aumento das populações de capivaras nas cidades. A expansão imobiliária, em virtude da construção de casas em áreas previamente utilizadas por grupos de capivaras, é responsável pelo início desse conflito. Como consequência, capivaras passam a invadir os terrenos das casas, comer plantas ornamentais em jardins (principalmente, bananas ornamentais, helicônias e palmeiras), morrer afogadas em piscinas, atacar cachorros nas residências, causar acidentes automobilísticos nas ruas, sujar jardins com fezes, contaminar gramados com carrapatos (MOREIRA et al., 2001) e até mesmo, em alguns casos raros, atacar pessoas (RECHENBERG et al., 2000). Contudo, há muitos moradores urbanos que apreciam a presença das capivaras em seus jardins (Figura 3). Entre os benefícios ou prazeres que a presença de capivaras nos jardins das casas pode proporcionar, eles citam: o prazer em saber da existência de capivaras na cidade, e de contar para amigos e familiares sobre a presença delas em sua propriedade; o fato de poderem vê-las ou admirá-las, sentir-se mais próximo da natureza, ou simplesmente perceber a sua presença; bem como o corte da grama e a adubação do jardim realizado pelos ani-

mais (MOREIRA et al., 2001). Entretanto, populações de capivara que se encontram sob forte pressão antrópica geralmente apresentam alteração de comportamento. Essas mudanças de comportamento são percebidas no tamanho, forma e estrutura de área de vida utilizada, alteração no uso do tempo, ou ainda no aumento do nível de alerta, da distância de fuga e da carga de estresse. Aparentemente, o tamanho e a estrutura dos grupos também são alterados (MOREIRA et al., 2001).

A capivara também pode ser, em alguns casos, portadora assintomática de alguns patógenos para espécies domésticas (BELLO et al., 1984). A presença de brucelose já foi detectada em indivíduos silvestres. Capivaras aparentemente saudáveis podem ser portadoras de *Trypanosoma evansi*, por isso provavelmente participam da transmissão do mal-das-cadeiras dos equinos. Porém essas doenças das capivaras possivelmente não constituem um problema para rebanhos de animais domésticos vacinados.

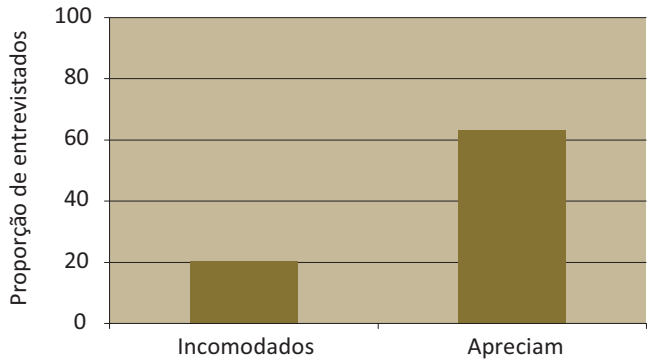


Figura 3. Porcentagem dos moradores entrevistados no Lago Sul (Lago Paranoá, Brasília, DF) que se sentem incomodados ou apreciam a presença de capivaras em seus jardins.

Recentemente, também têm surgido junto à população humana casos (uma morte por ano no Estado de São Paulo) de febre maculosa (cujo agente etiológico é a bactéria *Rickettsia rickettsii*), da qual a capivara tem

sido apontada como possível hospedeira (DIAS, 1938; LEMOS et al., 1996). Essa doença é transmitida pelo carrapato-estrela (*Amblyomma cajennense*), que é encontrado no cavalo e que tem a anta como hospedeira na natureza, mas que ocasionalmente pode ser encontrado na capivara (FIGUEIREDO et al., 1999). O carrapato da capivara (*Amblyomma cooperi*) pode ser infectado por outras riquetsias (ex.: *Rickettsia bellii*) não patogênicas ao homem, mas nunca foi registrado o caso de *A. cooperi* contaminado por *R. rickettsii* e nem contaminado por mais de uma riquetsia. Também nunca foi registrado caso de capivara infectada naturalmente por *Rickettsia rickettsii* (DIAS, 1938), bem como já foram registrados casos de febre maculosa em área sem capivara. Tudo leva a crer que foi precipitada a acusação da capivara como a responsável pelos casos de febre maculosa no Brasil[1], ainda que haja casos de capivaras altamente infestadas pelo carrapato-estrela.

Manejo de População-problema de Capivara

Quando a capivara é um problema, como os casos citados, torna-se importante a redução permanente do seu número. É ilusão pensar que uma única remoção de parte da população e transferência para um criadouro doméstico, como vem sendo realizado pelo Ibama na atualidade, solucionará o problema. Essa é uma medida apenas paliativa. A remoção de uma parcela de uma população silvestre reduz a competição por recursos do ambiente (alimento, abrigo, água, parceiro sexual etc) entre os indivíduos remanescentes e, consequentemente, aumenta a taxa reprodutiva da população. O resultado é o aumento do crescimento populacional. Portanto, a consequência da remoção de uma parcela de uma população-problema é a necessidade de remoção permanente de indivíduos.

[1] M. C. Horta, comunicação pessoal.

Ainda que permita o controle de praga e até mesmo a caça não comercial, a Lei nº 5.197 não permite que o produto desses controles (animais vivos ou sua carne) seja comercializado. Assim, a remoção de uma parcela de uma população-problema faz com que a praga apenas mude de categoria de problema – antes do controle, é problema porque destrói as lavouras, transmite doença ou compete por alimento ou espaço; depois, passa a ser problema, pois, periodicamente, tem que ter parte de sua população removida, com as despesas tendo que ser arcadas pelo proprietário rural. A melhor opção para o proprietário rural, em cuja propriedade a capivara é problema, é o extermínio da praga ou a destruição do ambiente em que ela vive. O que essa população está realmente necessitando é ter algum valor para o produtor rural – deixar de ser problema e passar a ser fonte de renda. Para isso é necessário que seja permitida a comercialização do produto da extração. A permissão do retorno comercial da extração do produto, para o proprietário de áreas onde a capivara é, problema, busca não só a conservação das populações remanescentes da espécie, mas também das áreas por elas utilizadas e, concomitantemente, das espécies não-alvo que utilizam esses ambientes. Dessa forma, o retorno para a conservação do meio ambiente pode ser muito maior.

Já existem propriedades rurais no Brasil realizando manejo de populações-problema de capivaras. Porém, não existe nenhum preparo nas faculdades, sejam de agronomia, engenharia florestal, zootecnia, veterinária, ou mesmo de biologia, para o técnico de manejo de fauna. Ao mesmo tempo, nenhum experimento de manejo de capivaras em vida livre, seja ele para controle ou para a exploração comercial, foi realizado até o momento no Brasil. Com exceção de alguns trabalhos de simulação de manejo da capivara na natureza por modelagem (MOREIRA, 1995; MOREIRA; MACDONALD, 1995; PAGLIA, 1997), nenhuma experiência de campo foi acumulada no Brasil sobre o assunto. Não existem técnicos preparados para essa atividade no Brasil.

É sabido que fazendas com populações-problema de capivaras estão sendo manejadas comercialmente no Brasil. Usam-se subterfúgios que contornam as restrições da Lei nº 5.197 para "maquiar" essas fazendas como criadouros de capivaras. Porém, conforme mencionado anteriormente, é preciso compreender que as estratégias de manejo de controle são diferentes daquelas de manejo comercial. As metas são praticamente opostas. A busca pela maximização da produção será sempre conflitante com a busca pela minimização do dano. O maior problema, porém, encontra-se em não haver, nessas propriedades onde a capivara é problema, acompanhamento da variação do tamanho populacional da espécie ao longo do tempo. Também não existe nenhuma preocupação em avaliar a variação, ao longo do tempo, dano por ela causado. Felizmente, a capivara é uma espécie generalista o suficiente para suportar altos níveis de extração e continuar tendo plena capacidade de recuperação da população em curto espaço de tempo. Até o momento, aparentemente, as populações-problema de capivara manejadas no Brasil não estão sob risco de extermínio. Porém, como nenhum acompanhamento vem sendo feito, o mais provável é que essas populações estejam sendo subexploradas. Também é possível que a redução dos danos por ela causados não esteja sendo feita o suficientemente necessário (o mais provável é que os danos nunca foram grandes o suficiente para considerá-la população-problema).

É fundamental que populações de capivaras, manejadas para controle ou para exploração, sejam acompanhadas quanto à variação de seu tamanho populacional. É necessário um permanente monitoramento dessas populações. Na próxima seção, são apresentadas diferentes técnicas de estimativa de densidade populacional, ou que podem ser utilizadas como índices de abundância de populações, que já foram testadas e são atualmente utilizadas para o caso das capivaras. Também é mostrada técnica de avaliação do poder de detecção de estratégia de monitoramento de uma espécie, quanto a variações no tamanho populacional.

Métodos de Monitoramento Populacional de Capivara

O conhecimento do tamanho ou densidade de uma população é fundamental para poder manejá-la. Essa é a maneira mais direta de se medir o sucesso de um programa de manejo e de se tomar as decisões adequadas para que ele venha a ser sustentável. Para se decidir qual a técnica a ser utilizada, é importante levar em consideração a viabilidade do uso da técnica na propriedade, o nível de precisão dos dados a serem obtidos e seus custos.

Podemos dividir os métodos de estimativa em dois tipos: censo ou índice. O censo, no sentido estrito da palavra, é a contagem total de indivíduos de uma população. Entretanto, muitas vezes utilizamos o termo na obtenção de estimativas de tamanho e densidade de uma população. Essa estimativa pode vir de contagens totais, de contagens amostrais ou mesmo de uso de técnicas indiretas de estimativa. Como exemplos de métodos indiretos, temos a marcação-recaptura ou o método de distância (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994).

No entanto, o índice sozinho não informa nada. Ele tem apenas uma relação proporcional a essas estimativas e pode fornecer informações de caráter comparativo. Ele permite comparações entre áreas ou no tempo. Como exemplos, podem ser citados a diferença no número de pegadas ou de fezes de capivaras existente entre duas diferentes áreas. Ou ainda, na redução no número de capivaras possíveis de serem caçadas por dia em uma região após muitos anos sob forte pressão de caça. Assim, índices são muito úteis na inferência de informações relativas a aumento ou decréscimo no tamanho populacional em uma mesma área (CAUGHLEY; SINCLAIR, 1994). Obviamente, é necessário que o método para o cálculo do índice seja possível de ser repetido em diferentes áreas ou no tempo, ou não terá termo de comparação.

O método que foi até hoje utilizado com maior frequência para a avaliação do tamanho populacional da capivara foi a contagem direta, que se beneficia do quão visível é uma capivara adulta, caso não esteja escondida. Geralmente é feita a partir de veículo (carro, motocicleta ou bicicleta) ou a cavalo. O grande problema dessa técnica é assumir que todos os animais da população são visualizados e não permitir a estimativa daqueles não vistos (CAUGHLEY, 1977). Sempre será, portanto, uma estimativa viesada do tamanho real da população. É um método que pode ser de grande utilidade para áreas muito abertas e onde os animais não estejam muito arredios. Também tem se mostrado útil para áreas pequenas. Porém, deve ser utilizada apenas como um índice de abundância (e não como estimativa de tamanho populacional). Esse é o método que vem sendo utilizado pela Esalq/USP no estudo das populações de capivaras no Rio Tietê e no Rio Piracicaba e pela Embrapa para o estudo das capivaras da Estação Ecológica de Águas Emendadas, em Brasília.

Outra técnica útil é o índice-manipulação-índice. Ele compara contagens diretas de capivaras antes e após a remoção de uma parcela da população. Como a parcela removida da população é conhecida, é possível estimar-se o tamanho total da população a partir da diferença entre as duas contagens (CAUGHLEY, 1977). Também é feito a partir de algum veículo. Para o cálculo do tamanho da população antes da remoção, utiliza-se uma regra de três simples:

$$\Upsilon_1 = I_1 C / (I_1 - I_2)$$

Em que Υ_1 é o tamanho populacional antes da manipulação, C é o número de animais removidos da população, I_1 é o número de animais contados antes da manipulação e I_2 é o número de animais contados após a manipulação. Esse método assume que, entre as duas contagens, não há mortalidade de animais que não aqueles abatidos, e que a visualização dos animais é a mesma entre as duas contagens diretas. Essas premissas nem

sempre são verdadeiras para a capivara, pois pode acontecer mortalidade de jovens durante e após o abate, e os animais podem se tornar arredios (e, portanto, de difícil visualização) após o abate. Entretanto, é um método que pode ser de muita utilidade para sistema de produção extensivo, caso seja feito apenas um abate por ano e também para manejo-controle.

Outra técnica que tem sido muito utilizada atualmente é a contagem dupla. Ela utiliza a mesma premissa do conhecido método de marcação-recaptura (SEBER, 1982). Porém, as duas capturas são feitas visualmente por dois censores. Um dos censores realiza a "captura" (os animais que ele viu) e o segundo realiza a segunda "captura" (os animais que o segundo viu) (MOURÃO; CAMPOS, 1995). É necessária a divisão da área (física ou temporal), para que seja possível a identificação das "recapturas" (quais os animais que os dois censores viram). Também é feito a partir de algum veículo (caminhonete, barco, avião...) tendo como premissa que a capacidade de visualização e a área coberta sejam as mesmas para os dois censores. Utiliza para o cálculo do tamanho populacional, a mesma fórmula da marcação-recaptura:

$$\Upsilon = S_1 S_2 / B$$

Em que Υ é o tamanho da população, S_1 é o número de animais avistados pelo observador 1, S_2 é o número de animais avistados pelo observador 2 e B é o número de animais avistados por ambos observadores. O método assume que, não havendo diferenças nas contagens dos censores, todos os animais da área foram vistos. Portanto, é necessário impor alguma dificuldade de visualização dos animais, para que haja diferença de contagem entre os censores. Assim, é importante que o veículo não percorra a área sob velocidade muito lenta. Porém, velocidade muito alta dificulta a contagem de grupos grandes. Para padronização do método e para permitir que o mesmo possa ser repetido, é necessária velocidade constante e distância constante da área onde os animais se encontram. É

importante que seja conhecida a área que está sendo coberta pela contagem, para que seja possível o cálculo da densidade populacional. Isso é relevante especialmente para contagens aéreas. A área amostrada também deve ser grande, para que as diferenças entre diferentes contagens da mesma área, não sejam devido a chance de presença ou ausência de grupos que utilizam a área. É um método que pode ser útil para áreas grandes, especialmente, quando é feito a partir de levantamentos aéreos. É o método que vem sendo utilizado pela Embrapa, para o cálculo do tamanho populacional de capivaras e jacarés no Pantanal Mato-grossense.

Uma técnica muito utilizada para levantamento populacional de mamíferos de médio porte é o método de distância. Foi desenvolvido a partir da premissa de que um animal mais próximo do observador tem maior chance de ser visualizado (KREBS, 1989). Pode ser realizada por apenas um observador a pé ou em qualquer veículo de transporte que possa locomover-se na área (cavalo, bicicleta, barco, motocicleta e até avião). O observador percorre um transecto (percurso) de comprimento conhecido e, a cada visualização de animal ou grupo, anota as seguintes variáveis: (a) ângulo entre o animal e o transecto; (b) distância do animal ao observador. Essas duas variáveis são tomadas, na realidade, para calcular o dado desejado, que é a distância do animal ao transecto, em ângulo reto. Esse método calcula a densidade animal da área:

$$D = (½L)\,\Sigma_k\,(1 \,/\, r)$$

Em que $\boldsymbol{D}$ é a densidade animal, $\boldsymbol{L}$ é o comprimento do transecto, $\boldsymbol{k}$ é o número de animais detectados e $\boldsymbol{r}$ a distância do animal detectado ao transecto. O método pode ser muito útil para a capivara, entretanto, demanda uma certa habilidade e tempo para o cálculo do ângulo e a estimativa da distância do animal ao transecto. Também é um método muito sensível a erros na estimativa da distância. Portanto, é importante que

estas sejam muito acuradas. O ideal é o cálculo da distância a passos ou trena, após a visualização, ainda que possa espantar os animais. O método assume que a visualização dos animais decresce com o aumento da distância destes ao transecto. Assim, é esperada a visualização de mais animais próximo ao transecto, decrescendo o número a maiores distâncias. É fundamental que o percurso do transecto seja escolhido aleatoriamente e não siga um caminho já traçado (TOMÁS et al., 2001). Para facilitar o cálculo da densidade animal pelo método de distância, existem programas disponíveis na internet. O programa Distance pode ser copiado de graça no site: **http://www.ruwpa.st-and.ac.uk/distance/**

Avaliação do Poder de Detecção de Tendências de Parâmetros Populacionais em Programas de Monitoramento

Estudos populacionais são importantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo de espécies silvestres. Um dos principais objetivos de estudos populacionais é a identificação de tendências ocorrentes no tempo. Um problema comum para a identificação de tendências é a existência de ruído (imprecisão dos resultados). Programas de monitoramento de populações-problema são ferramentas fundamentais para a otimização dos esforços na estimativa de variação do tamanho populacional. O poder estatístico de um programa de monitoramento de uma espécie é a probabilidade de detecção de tendência quando esta existe, mesmo na presença de ruído. Entretanto, ele é raramente avaliado. A falta de avaliação do poder estatístico de um programa de monitoramento pode ter como consequência a coleta de dados insuficientes para a detecção de tendências. Pode, portanto, ocorrer de a população estar em decréscimo e isso não ser detectado pelo monitoramento. O contrário também pode acontecer e, com isso, recursos serem desperdiçados por ser detectada superamostragem.

A Análise de Poder é uma ferramenta estatística que permite testar o poder de detecção de tendências por parte de programas de monitoramento de espécies. O programa Monitor 6.2 pode ser utilizado para esse fim. Monitor é um software que foi desenvolvido para explorar as interações entre os componentes de programas de monitoramento e para avaliar como cada componente influencia o poder desses programas para detectar tendências (GIBBS, 1995). Assim, Monitor pode servir como uma ferramenta valiosa para acessar a eficiência de programas de monitoramento e no delineamento de novos programas. Ele pode ser copiado de graça no site: **http://nhsbig.inhs.uiuc.edu/wes/populations.html**

A estimativa do poder estatístico de programas de monitoramento de populações é feita pelo Monitor em relação aos seguintes fatores: (a) número de parcelas monitoradas; (b) magnitude das contagens por parcela; (c) variação da contagem; (d) esquema de peso das parcelas; (e) duração do monitoramento; (f) intervalo de monitoramento; (g) magnitude e natureza das atuais tendências da população; e (h) nível de significância associado a detecção da tendência, entre outros (GIBBS, 1995). Esses fatores interagem de maneira complexa determinando a capacidade dos programas de monitoramento de identificar tendências na população. Assim, perguntas básicas e importantes como "quantas parcelas devem ser monitoradas?" ou "com que frequência deve ser feito o monitoramento?" raramente podem ser respondidas de maneira intuitiva (GIBBS, 1995). Monitor é uma ferramenta importante para definir a estrutura do programa de monitoramento de populações.

Considerações Finais

Não existem, no Brasil, experiência e cultura de manejo de controle de espécies-problema. É importante e urgente que essas experiências sejam desenvolvidas. Quando tratando de metas de manejo, é fundamental que as hierarquias de decisão sejam bem definidas em termos de política

pública, objetivo técnico e ação de manejo necessária. Para o sucesso de uma política de manejo de fauna, é fundamental que critérios de avaliação de seu insucesso sejam definidos claramente de maneira mensurável. Ao mesmo tempo, o manejo da vida silvestre só pode progredir se a decisão técnica e o tratamento apropriado para o alcance de suas metas forem apresentados de maneira que os seus resultados possam ser avaliados.

É importante perceber que a exploração sustentável de uma população animal tem objetivos contrastantes com o manejo de uma população-problema. O primeiro visa a maximização da produção animal, enquanto o segundo a sua minimização. Ademais, o objetivo do manejo de uma população-problema deve estar definido precisamente não em termos do número (ou percentual) de animais removidos, mas sim nos benefícios que isso traria na redução do dano. Assim sendo, devem ser desenvolvidas técnicas de avaliação da redução dos danos. O manejo deve ser delineado em bases experimentais e hipóteses devem ser formuladas. Ao mesmo tempo, é fundamental que as variações no tamanho populacional sejam acompanhadas indefinidamente, bem como avaliado o poder de detecção de variação do método utilizado para avaliação do tamanho populacional.

Finalmente, é de pensamento dos autores que, caso a fauna não tenha alguma utilidade para o povo, ela não será por ele valorizada e, consequentemente, não será conservada. Para que populações-estoque de capivaras sejam mantidas no ambiente natural e seus habitats preservados, é necessário que haja benefícios para os proprietários de áreas onde a espécie é problema. É crucial que seja possível a comercialização do produto da extração do controle.

Referências

BEGON, M.; MORTIMER, M. **Population Ecology**: a unified study of animals and plants. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1986.

BELLO, N. A.; LORD, V.; LASERNA, R. Enfermedades infecciosas que afectan el chiguire (*Hidrochaeris hidrochaeris*). **Revista Veterinaria Venezolana**, Caracas, n. 278, p. 32-46, 1984.

BREWER, G. J. **Ecological Basis of Pest Management.** Fargo: North Dakota State University, 2001. Disponível em: <http://www.ndsu.nodak.edu/entomology/topics/ipm.htm>. Acesso em: jun. 2004.

CAUGHLEY, G. **Analysis of Vertebrate Populations.** Chichester: John Wiley & Sons, 1977.

CAUGHLEY, G.; SINCLAIR, A. R. E. **Wildlife Ecology and Management.** Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994.

DIAS, E. Depositários naturaes e transmissores da febre maculosa brasileira. **Brasil Médico**, v. 52, p. 269-272, 1938.

ESCOBAR, A.; GONZALEZ-JIMENEZ, E. Estudio de la competencia alimenticia de los herbivoros mayores del Llano inundable con especial al chiguire (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Agronomia Tropical**, v. 26, n. 3, p. 215-227, 1976.

FIGUEIREDO, L. T. M.; BADRA, S. J.; PEREIRA, L. E.; SZABO, M. P. J. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** v. 32, p. 613-619, 1999.

GIBBS, J. P. **Monitor Users Manual**; software for estimating the power of population monitoring programs to detect trends in plant and animal abundance. 1995. Disponível em: <http://nhsbig.inhs.uiuc.edu/wes/populations.html>. Acesso em: jul. 2004.

KLEIMAN, D. G.; EISENBERG, J. F.; MALINIAK, E. Reproductive parameters and productivity of caviomorph rodents. In: EISENBERG, J. F. (Ed.). **Vertebrate Ecology in the Northern Neotropics.** Washington: Smithsonian Institution Press, 1979. p. 173-183.

KREBS, C. J. **Ecological Methodology**. Nova York: Harper Collins, 1989.

LEMOS, E. R. S.; MELLES, H. H. B.; COLOMBO, S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; SANSEVERINO, S. R.; MOURA, A.

Primary isolation of Spotted Fever Group Rickettsiae from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 3, p. 273-275, 1996.

MATLACK, G. R. Plant species migration in a mixed-history forest landscape in eastern North America. **Ecology**, v. 75, p. 1491-1502, 1994.

MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Applying Pesticides Correctly -- Private Applicator Supplement; Vertebrate Pests. Lincoln: University of Nebraska-Lincoln, 1991. Disponível em: <http://pested.unl.edu/priv1e.htm>. Acesso em: jun. 2004.

MOREIRA, J. R. The Reproduction, Demography and Management of Capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) on Marajó Island - Brazil. 1995. 169 p. D. Phil. (Thesis on Zoology) - Lady Margaret Hall, University of Oxford, Oxford.

MOREIRA, J. R.; MACDONALD, D. W. Capybara Use and Conservation in South America. In: TAYLOR, V. J.; DUNSTONE, N. (Ed.). **The Exploitation of Mammal Populations.** London: Chapman & Hall, 1996. Chap. 7. p. 88-101.

MOREIRA, J. R.; MACDONALD, D. W. Simulação do efeito da seleção de sexo no abate de capivaras (*Hydrochaeris hidrochaeris*) na Ilha de Marajó - Pará. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: SBZ, 1995. p. 399-402.

MOREIRA, J. R.; MACDONALD, V. Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores na Amazônia. In: VALLADARES-PADUA, C.; BODMER, R. E.; CULLEN JR., J. (Ed.). **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil.** Rio de Janeiro: Sociedade Civil Mamirauá, 1997. p. 186-213.

MOREIRA, J. R.; PINHA, P. R. S.; CUNHA, H. J. Capivaras do Lago Paranoá. In: FONSECA, F. O. (Ed.). **Olhares Sobre o Lago Paranoá.** Brasília, DF: Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos, 2001. p. 141-147.

MOURÃO, G.; CAMPOS, Z. Survey of the broad-snouted caiman *Caiman latirostris*, marsh deer *Blastocerus dichotomus* and capybara *Hydrochaeris hydrochaeris* in the area to be inundated by Porto Primavera dam, Brazil. **Biological Conservation**, v. 73, p. 27-31, 1995.

OJASTI, J. Human exploitation of capybara. In: ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H. (Ed.). **Neotropical Wildlife Use and Conservation.** Chicago: The University of Chicago Press, 1991. p. 236-252.

PAGLIA, A. P. **Ecologia populacional e modelagem da exploração econômica da capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) no Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul.** 1997. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PEHLING, D. **Principles of vertebrate pest management.** 2003. Disponível em: <http://snohomish.wsu.edu/vertchap.htm>. Acesso em: jun. 2004. W.S.U. Snohomish County.

RECHENBERG, E. **Uma proposta de ação para gerenciar os conflitos associados à capivara Hydrochaeris hydrochaeris (Mammalia, Rodentia), nas margens.** 2000. 274 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Regional de Blumenau, Blumenau.

SEBER, G. A. F. **The Estimation of Animal Abundance and Related Parameters.** Nova York: Macmillan Publishing, 1982.

TOMÁS, W. M.; MCSHEA, W.; MIRANDA, G. H. B.; MOREIRA, J. R.; MOURÃO, G.; LIMA BORGES, P. A. A survey of a pampas deer, *Ozotoceros bezoarticus leucogaster* (Arctiodactyla, Cervidae), population in the Pantanal wetland, Brazil, using the distance sampling technique. **Animal Biodiversity and Conservation**, v. 24, p. 101-106, 2001.

19

Criopreservação de Espermatozoides do Epidídimo de Animais Domésticos e Silvestres Mortos: uma estratégia para conservação animal ex situ

Carlos Frederico Martins

A conservação de recursos genéticos é uma alternativa para diminuir a perda contínua dos animais devido à degradação ambiental. O ápice da conservação exige estratégias in situ e ex situ, para que sejam mantidas as populações ainda existentes no meio ambiente. Em razão das grandes dificuldades da implantação e manutenção de programas de conservação dos animais no seu habitat natural, a conservação ex situ tem ganhado destaque pela sua praticidade.

A criopreservação de germoplasma é uma alternativa que diminui as limitações empregadas pelo tempo e distância, para a conservação de diversas espécies em risco de extinção (LOSKUTOFF, 1998). Por meio da criopreservação de germoplasma em botijões de nitrogênio líquido a -196 °C, o material biológico é mantido quase que com as mesmas características após o descongelamento (SANTOS, 2000). Por meio da congelação de gametas, embriões e células somáticas, tem-se a possibilidade de utilização desses germoplasmas em técnicas de reprodução assistida, tais como a transferência de embriões e a inseminação artificial, que permitiriam o aumento de populações ex situ e in situ (WILSON, 1997). Há a estimativa de que embriões e espermatozoides criopreservados em

nitrogênio líquido a –196 °C possam resistir até 3.000 anos em condições viáveis. Entretanto a relativa infância da reprodução assistida permite comprovar, com fatos pouco menos de 50 anos de sobrevivência dos espermatozoides em botijões criogênicos (LOSKUTOFF, 1998).

A criopreservação do sêmen é sem dúvida a principal técnica utilizada para conservação animal ex situ. O sêmen pode ser coletado a partir principalmente das técnicas de eletroejaculação, massagem retal e vagina artificial (TROUNSON et al., 1998). Os crioprotetores utilizados para animais de produção têm como base o glicerol e a gema de ovo, que geralmente vêm sendo utilizados de forma efetiva para espécies silvestres, tais como o impala, a girafa, o búfalo e outros. No entanto, outros crioprotetores internos podem ser utilizados, como: etilenoglicol, propilenoglicol e dimetil sufóxido (DMSO) (LOSKUTOFF, 1998).

Porém, quando um animal morre, as alternativas para recuperação de seu germoplasma diminuem consideravelmente, não sendo mais aplicadas as mesmas técnicas do animal vivo. Em populações de animais domésticos naturalizados (bovinos, equinos, ovinos, caprinos e suínos), bem como de mamíferos silvestres que estão sofrendo crescente redução no número de indivíduos, a morte de algum animal do grupo pode representar perda de seu patrimônio genético (germoplasma) e consequentemente a perda de genes importantes para manter a variabilidade genética para sua população.

No entanto, muitas equipes têm dedicado esforços para recuperar o germoplasma teoricamente perdido e utilizá-lo com auxílio das biotécnicas de reprodução para multiplicação animal. Nesse contexto, encontra-se a técnica de recuperação e criopreservação de espermatozoides do epidídimo (parte tubular do aparelho sexual masculino que se localiza no testículo) de animais mortos, como uma técnica para conservação da biodiversidade animal, uma vez que os gametas podem permanecer viáveis por vários períodos. De acordo com Fernández-Santos et al. (2009),

o compartimento epididimário parece apresentar condições de prolongar a sobrevivência espermática, uma vez que a cauda do epidídimo fornece um excelente ambiente para a estocagem espermática no estado quiescente.

Garde et al. (1998) demonstraram que espermatozoides viáveis do epidídimo podem ser recuperados de veados mortos e mantidos a temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C), por mais de 24 horas após a morte. Outros estudos também mostraram que espermatozoides coletados do epidídimo 40 horas após a morte de machos mouflon foram capazes de fecundar ovócitos in vivo (GARDE et al., 1995).

Apesar de a cauda do epidídimo oferecer boas condições para manter os espermatozoides vivos, muitos trabalhos (AN et al., 1999; JISHAGE et al., 1997; KIKUCHI et al., 1998; KISHIKAWA et al., 1999; YU; LEIBO, 2002; MARTÍNEZ-PASTOR et al., 2005a; FERNÁNDEZ-SANTOS et al., 2009) concordam que a refrigeração do epidídimo é a melhor estratégia para diminuir os danos com a deteriorização espermática. Mas é importante lembrar que existem muitas dissimilaridades entre espécies, possivelmente devido aos espermatozoides do epidídimo apresentarem diferenças na resistência ao frio.

A forma mais comum de obtenção de espermatozoides do epidídimo de animais mortos é pela retirada dos testículos, e seu resfriamento antes da extração dos espermatozoides. Para extração, os espermatozoides da cauda do epidídimo e da região proximal do ducto deferente podem ser isolados de duas formas: (1) por fluxo gerado pela injeção de meio de congelação no canal deferente em direção ao epidídimo; e por (2) cortes na região do corpo do epidídimo ou dissecação, seguida de cortes e pressão manual na região da cauda do epidídimo (KOLBE; HOLTZ, 1999; HEWITT et al., 2001; MARTINEZ-PASTOR et al, 2005b; MARTINS et al., 2007) (Figura 1).

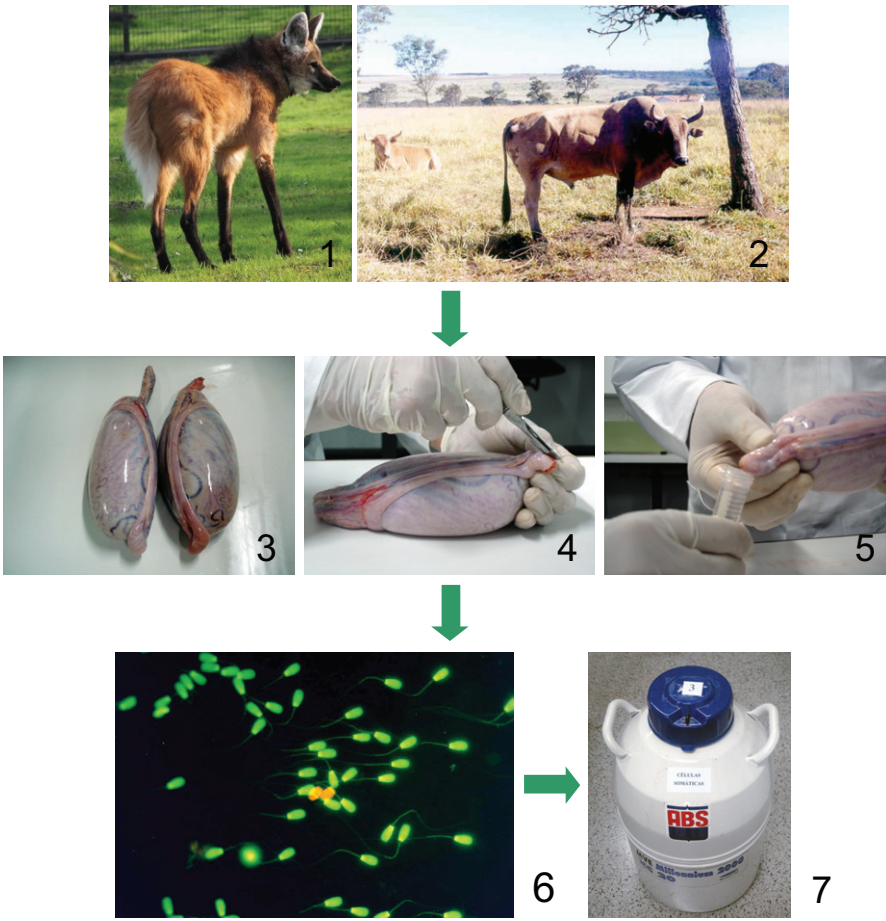


Figura 1. Esquema demonstrando a recuperação de espermatozoides de animais mortos.

Legenda: Foto 1: Lobo Guará: (*Chrysocyon brachyurus*) e Foto 2: Touro pantaneiro – animais potenciais para aplicação da técnica. Fotos 3, 4 e 5: coleta, incisão e pressão manual para recuperação espermática, respectivamente. Foto 6: avaliação espermática pré-criopreservação. Foto 7: criopreservação em botijão criogênico para uso posterior do germoplasma pelas biotécnicas de reprodução.

Fotos: Carlos Frederico Martins.

Porém, não basta recuperar espermatozoides viáveis após a morte animal, também é fundamental estender ao máximo sua viabilidade e potencial de fecundação, para a adequada utilização em momento oportuno pelas biotécnicas de reprodução. Assim, a melhor estratégia é promover

a criopreservação dos espermatozoides recuperados dos animais mortos em nitrogênio líquido, prolongando a sua viabilidade.

A recuperação dos espermatozoides do epidídimo, juntamente com a criopreservação dos mesmos, tem se constituído em um importante procedimento para a conservação animal. Essa estratégia tem sido utilizada em diferentes espécies, tais como: humanos (OATES et al., 1996), bovinos (MARTINS et al., 2007), suínos (KOLBE; HOLTZ, 1999), javali (KIKUCHI et al., 1998), ratos (KISHIKAWA et al., 1999), gatos (BOGLIOLO et al., 2001), cervos (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005a), gazelas (SARAGUSTY et al., 2006), macacas (SANKAI et al., 2001) e outros.

As pesquisas com animais domésticos estão bem à frente, quando comparadas as de animais silvestres, que vêm ganhando maior atenção dos cientistas atualmente. Apesar de muitas etapas dos protocolos serem extremamente semelhantes, nem sempre os protocolos de animais domésticos são apropriados para animais silvestres. Para que estes sejam otimizados, faz-se necessário um estudo mais específico dos mesmos (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b).

Para os animais silvestres, os bancos de germoplasma apresentam muitas dificuldades no abastecimento de gametas, uma vez que uma série de fatores implica na obtenção dos gametas nos animais vivos. Nesse caso, os espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo após a morte do animal podem ser uma excelente fonte de aquisição de gametas masculinos. Esse germoplasma pode ser utilizado para a restauração de populações (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005c).

Em alguns países, a caça esportiva vem sendo um problema para espécies silvestres, uma vez que essa prática diminui o número de indivíduos das populações, concomitantemente a variabilidade genética. Na Espanha, por exemplo, existem propriedades privadas que permitem a caça desde que seja de forma controlada. Esses locais podem servir como fonte de espermatozoides do epidídimo dos animais caçados, como

por exemplo, o *Cervus Elaphus Hispanicus* (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005a).

Ainda, tem sido relatado que mamíferos de pequeno porte podem ter seus corpos resfriados por completo para a conservação espermática. Nesse caso, cadáveres de ratos mantidos no refrigerador a 4 °C, por dez dias após a morte, apresentaram 30% de seus espermatozoides viáveis. Esses tiveram habilidade limitada na fecundação in vitro (FIV), porém, na injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), 80% das fertilizações alcançaram êxito (KISHIKAWA et al., 1999).

Vários lugares do mundo, tais como Japão (SANKAI et al., 2001), Espanha (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b), Israel (SARAGUSTY et al., 2006) e outros, possuem pesquisas sobre a recuperação de espermatozoides do epidídimo de animais silvestres mortos.

No Brasil, apesar de não existirem pesquisas com animais silvestres utilizando espermatozoides do epidídimo, existem pesquisas realizadas em animais de produção, tais como bovinos (MARTINS et al., 2007) com resultados promissores (Tabela 1), destacando a relevância da aplicação do procedimento de recuperação, criopreservação e utilização dos espermatozoides do epidídimo de animais mortos pela técnica de fecundação in vitro.

Tabela 1. Taxa de clivagem (dia 2) e taxa de embriões na fase de Blastocisto (dias 6, 7 e 8) produzidos in vitro, utilizando espermatozoides do touro controle, e espermatozoides recuperados do epidídimo de três touros mortos (A1, A2 e A3).

Animal	Número de ovócito	Clivagem (%)	Blastocisto	Blastocisto	Blastocisto
			Dia 6 (%)	Dia 7 (%)	Dia 8 (%)
Controle	144	128 (88,9)[a]	41 (28,5)[a]	78 (54,2)[a]	83 (57,6)[a]
A 1	140	115 (82,1)[a]	27 (19,3)[a]	54 (38,6)[a,b]	61 (43,6)[a,b]
A 2	145	117 (80,7)[a]	29 (20,0)[a]	49 (33,8)[ab]	55 (37,9)[a,b]
A 3	135	77 (57,0)[a]	22 (16,3)[a]	29 (21,5)[b]	34 (25,2)[b]

[a,b] Dentro da coluna, as porcentagens com diferentes letras diferem significativamente, $p<0,05$
Fonte: Martins et al., 2007.

Para facilitar futuras pesquisas com a fauna silvestre brasileira, é possível se utilizar como referência a aplicação da técnica em indivíduos de um mesmo táxon, independentemente de sua localização geográfica. Essa comparação é possível uma vez que indivíduos do mesmo táxon tendem a ter características morfológicas, genéticas e ecológicas semelhantes (HICKMAN JUNIOR, 2004).

O Ibama tem apresentado uma extensa lista de mamíferos silvestres ameaçados (BRASIL, 2006) nos diferentes biomas do Brasil. Para esses animais, a recuperação e criopreservação de espermatozoides do epidídimo de animais mortos parece ser uma grande alternativa, visto que muitos animais são encontrados mortos no ambiente, ainda apresentando chances de terem seu germoplasma recuperado. Segundo pesquisa realizada por Rodrigues et al. (2002) do instituto Pró-Carnívoros, durante o período de um ano foram registrados 666 animais vertebrados atropelados na área da Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF; das 100 espécies identificadas nessa pesquisa, pelo menos uma estava ameaçada de extinção, o Lobo Guará (*Chrysoncyon brachyurus*). Assim, a aplicação do processo de recuperação e criopreservação dos espermatozoides do epidídimo nesses animais poderá ser uma medida emergencial relevante para se evitar a perda de genes importantes devido à morte animal.

Dessa forma, além de ser uma importante estratégia para resgatar germoplasma de animais domésticos de alto valor genético e econômico, a técnica de criopreservação de espermatozoides do epidídimo de mamíferos mortos tem sido especialmente importante para os mamíferos silvestres que estão ameaçados de extinção, pois pode evitar que material genético importante seja perdido.

Referências

AN, T.; WADA, S.; EDASHIGE, K.; SAKURAI, T.; KASAI, M. Viable spermatozoa can be recovered from refrigerated mice up to 7 days after death. **Cryobiology**, v. 38, p. 27-34, 1999.

BOGLIOLO, L.; LEONI, G.; LEDDA, S.; NAITANA, S.; ZEDDA, M.; CARLUCCIO, A.; PAU, S. Intracytoplasmic sperm injection of in vitro matured oocytes of domestic cats with frozen-thawed epididymal spermatozoa. **Theriogenology**, v. 56, p. 955-967, 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. Disponível em:** <http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna/index.cfm>. Acesso em: 05 maio 2006.

FERNÁNDEZ-SANTOS, M. R.; MARTÍNEZ-PASTOR, F.; MATIAS, D.; DOMÍNGUEZ-REBOLLEDO, A. E.; ESTESO, M. C.; MONTORO, V.; GARDE, J. J. Effects of long-term chilled storage of red deer epididymides on DNA integrity and motility of thawed spermatozoa. **Animal Reproduction Science,** v. 111, p. 93-104, March 2009.

GARDE, J. J.; ORTIZ, N.; GARCÍA, A.; GALLEGO, L.; LANDETE-CASTILLEJOS, T.; LÓPEZ-SÁEZ, A. Postmortem assessment of sperm characteristics of the red deer during the breeding season. **Systems Biology in Reproductive Medicine,** v. 41, n. 3, p. 195-202, 1998.

GARDE, J. J.; PEREZ, S.; AGUADO, M. J.; AYLLON, E.; GARRIDO, D.; MONTORO, V. Live birth of hybrid (O. musimon x O. aries) lambs following intrauterine insemination in domestic sheep with mouflon semen obtained 40 h postmortem. **Theriogenology**, v. 43, p. 218, 1995 [abstract].

HEWITT, D. A.; LEAHY, R.; SHELDON, I. M.; ENGLAND, G. C. Cryopreservation of epididymal dog sperm. **Animal Reproduction Science**, v. 67, p. 101-111, 2001.

HICKMAN JUNIOR, C. P. **Princípios Integrados de Zoologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 846 p.

JISHAGE, K.; UEDA, O.; SUZUKI, H. Fertility of mouse spermatozoa from cauda epididymis preserved in paraffin oil at 4 °C. **Journal of Mammalian Ova Research**, v. 14, p. 45-48, 1997.

KIKUCHI, K.; NAGAI, T.; KASHIWAZAKI, N.; IKEDA, H.; NOGUCHI, J.; SHIMADA, A.; SOLOY, E.; KANEKO, H. Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4 °C. **Theriogenology**, v. 50, p. 615-623, 1998.

KISHIKAWA, H.; TATENO, H.; YANAGIMACHI, R. Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4 degrees °C. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 116, n. 2, p. 217-222, 1999.

KOLBE, T.; HOLTZ, W. Intracytoplasmic injection (ICSI) of in vivo or in vitro matured oocytes with fresh ejaculated or frozen-thawed epididymal spermatozoa and additional calcium-ionophore activation in the pig. **Theriogenology**, v. 52, p. 671-682, 1999.

LOSKUTOFF, N. M. Biology, Technology and Strategy of Genetic Resource Banking in Conservation Programs for Wildlife. **Gametes:** Developemant and Function, p. 275-286, 1998.

MARTINS, C. F.; RUMPF, R.; PEREIRA, D. C.; DODE, M. N. Cryopreservation of epididymal bovine spermatozoa from dead animals and its uses in vitro embryo production. **Animal Reproduction Science**, v. 101, p. 326-331, 2007.

MARTINEZ-PASTOR, F.; DIAZ-CORUJO, A. R.; ANEL, E.; HERRAEZ, P.; ANEL, L.; DE PAZ, P. Post mortem time and season alter subpopulation characteristics of Iberian red deer epididymal sperm. **Theriogenology**, v. 64, p. 958-974, 2005c.

MARTINEZ-PASTOR, F.; GARCIA-MACIAS, V.; ALVAREZ, M.; CHAMORRO, C.; HERRAEZ, P.; DE PAZ, P.; ANEL, L. Comparison of two methods obtaing spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. **Theriogenology**, v. 65, p. 471-485, 2005b.

MARTINEZ-PASTOR, F.; GUERRA, C.; KAABI, M.; DIAZ, A. R.; ANEL, E.; HERRAEZ, P.; PAZ, P.; ANEL, L. Decay of sperm obtained from epididymes of wild ruminants depending on postmortem time. **Theriogenology**, v. 63, p. 24-40, 2005a.

OATES, R. D.; LOBEL, S. M.; HARRIS, D. H.; PANG, S.; BURGESS, C. M.; CARSON, R. S. Efficacy of intracytoplasmic sperm injection using intentionally cryopreserved epididymal spermatozoa. **Human Reproduction,** v. 11, p. 133-138, 1996.

RODRIGUES, F. H. G.; HASS, A.; REZENDE, L. M.; PEREIRA, C. S.; FIGUEIREDO, C. F.; LEITE, B. F.; FRANCA, F. G. F. Impacto de rodovias sobre a fauna da Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO, 3., 2002, Fortaleza.

Anais... Fortaleza: Rede Nacional Pró-Unidades de Conservação: Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, 2002. p. 585-593.

SANKAI, T.; TSUCHIYA, N.; OGONUKI, N. Short-term nonfrozen storage of mouse epididimal spermatozoa. **Theriogenology**, v. 55, p. 1759-1768, 2001.

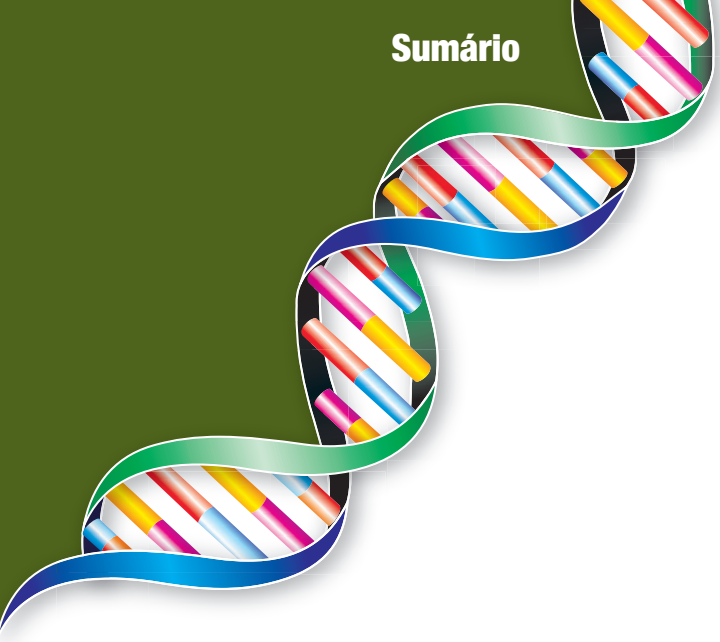
SARAGUSTY, J.; GACITUA, H.; KING, R.; ARAV, A. Post-mortem semen cryopreservation and characterization in two different endangered gazelle species (Gazella gazella and Gazella dorcas) and one subspecies (Gazella gazelle acaiae). **Theriogenology**, v. 66, p. 774-784, 2006.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: Potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (Edição Especial), p. 70-84, 2000.

TROUNSON, A.; GUNN, I.; LACHAM-KAPLAN, O.; LEWIS, I.; MCKINNON, A.; PEURA, T.; SHAW, J. Manipulation of development: opportunities for animal breeding. **Gametes:** development and function, p. 485-498, 1998.

YU, I.; LEIBO, S. P. Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa form canine epididymides stored for 8 days at 4 °C. **Theriogenology**, v. 57, p. 1179-1190, 2002.

WILSON, E. O. **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 657 p.



Glossário

A

Abiótico: provocado ou induzido pela ação de outros fatores que não sejam organismos vivos. Relativo a fatores físicos e químicos do ambiente, que não possuem condições de adaptabilidade, como água, temperatura, solo, etc.

Acesso: amostra de germoplasma representativa de um indivíduo ou de vários indivíduos da população (*ver*). Qualquer registro individual constante de uma coleção de germoplasma (*ver*).

Acesso domesticado: acesso (*ver*) que passou por um conjunto de atividades relacionadas ao conhecimento do modo de reprodução, de propagação, do sistema de cruzamento (*ver*) e do sistema de manejo, sendo incorporado ao acervo de plantas disponíveis para uso e consumo pelo homem.

Acesso silvestre: acesso (*ver*) que ainda não foi domesticado (*ver acesso domesticado*).

Actinomicetos: são microrganismos que constituem um filo de bactérias Gram-positivas (actinobactérias). Devido ao fato de possuírem organiza-

ção filamentosa, muitas vezes ramificada, além de produzirem cadeias de esporos semelhantes aos conídios dos fungos, são com frequência erroneamente classificados como fungos. Porém, ao contrário destes, são organismos procarióticos.

Acurácia: uma medida da correlação entre o valor estimado e o valor real. Tal medida informa a proximidade do valor estimado em relação ao valor real, refletindo a confiabilidade daquela estimativa.

Aeróbico: ser ou organismo que vive, cresce ou metaboliza apenas em presença do oxigênio. Processo que ocorre somente em presença de oxigênio.

AFLP: vem do inglês *Amplified Fragment Length Polymorphism*, ou seja, polimorfismos (*ver*) de comprimento de fragmentos amplificados. AFLPs são fragmentos de DNA (80 pb a 500 pb) obtidos com a digestão do DNA com enzimas de restrição, seguida da ligação de oligonucleotídeos adaptadores e amplificação seletiva dos fragmentos via PCR. Esse tipo de marcador combina os princípios dos marcadores RAPD (*ver*) e RFLP (*ver*).

Agente fungistático: agente que impõe dormência através da competição, que limita a disponibilidade de nutrientes, especialmente a esporos fúngicos.

Agrobiodiversidade: termo utilizado para referir à diversidade de seres vivos, de ambiente terrestres ou aquáticos, cultivados em diferentes estágios de domesticação.

Agrotóxicos: produtos químicos destinados ao uso em setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, em pastagens, proteção florestas nativas ou implantadas e outros ecossistemas, como também nos ambientes urbanos, hídricos e industriais, com a finalidade de alterar a composição da flora ou da fauna, visando à preservação desses ambientes da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.

Alelos: formas alternativas de um gene (*ver*), situadas em um mesmo loco (*ver*) em cromossomos homólogos (*ver*).

Algas: organismos eucariotos, podendo ser unicelulares e microscópicos ou multicelulares com vários metros de comprimento. Apresentam o pigmento clorofila, semelhantes às plantas e, portanto, são seres autotróficos, ou seja, são capazes de utilizar CO_2 como única fonte de carbono.

Alogamia: fertilização cruzada; união de um gameta masculino e um feminino produzidos em indivíduos diferentes (*ver espécie alógama*).

Ambiente extremo: ambiente cujas condições de vida são extremamente adversas ou não há possibilidade de vida para a maioria dos seres.

Amostra: subconjunto de uma população pelo qual se estimam as propriedades e características dessa população.

Amostragem: sistemática de efetuar-se a amostra (*ver*). Pode-se ter amostragens seletivas ou ao acaso e o número ideal de indivíduos a ser amostrado varia de acordo com o objetivo da amostragem.

Anaeróbicos: organismo que cresce ou processo que ocorre na ausência de oxigênio molecular.

Análise de agrupamento: análise estatística que objetiva detectar grupos em um conjunto de dados, indivíduos ou acessos, produzindo uma classificação com base em suas características (*ver*). Medidas de distância e similaridade, baseadas em análises multivariadas, são normalmente utilizadas como base para tal análise.

Análise de dispersão: análise estatística que visa plotar indivíduos ou acessos (*ver*) em um gráfico de 2 ou 3 dimensões. Normalmente, quanto maior a distância gráfica maior a distância genética (*ver*) entre os indivíduos ou acessos plotados.

Anamorfo: estado imperfeito ou fase assexuada (somática) de um fungo. Atualmente esse estágio é também designado pelo termo mitospórico.

Na reprodução assexuada nunca ocorre cariogamia (fusão de núcleos) e meiose, fenômenos característicos da reprodução sexuada.

Antagonistas: que agem em sentido oposto. No controle biológico de fitopatógenos, um antagonista é aquele microrganismo que inibe o patógeno utilizando um ou mais mecanismos que são basicamente a antibiose (antibióticos, toxinas e enzimas que afetam o desenvolvimento do patógeno), parasitismo e competição.

AP-PCR: vem do inglês *Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction*, ou seja, reação em cadeia da polimerase iniciada arbitrariamente. Terminologia usada para um tipo de marcador genético molecular do DNA (*ver*) amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando *primers* curtos (geralmente dez nucleotídeos) de sequência aleatória, também conhecido como RAPD (*ver*).

Arcabouço legal: conjunto de leis que estabelecem as normas e orientam ações, compromissos e arranjos institucionais a benefício da sociedade.

Árvore filogenética: agrupamento dos organismos com base nas suas relações evolutivas. É construída baseado em genes sequenciados ou dados genômicos mostrando as inter-relações entre as várias espécies ou outras entidades (grupos taxonômicos) que são acreditadas ter um ancestral comum. Também chamada de árvore evolucionária.

Árvore genealógica: é a representação gráfica da genealogia (*ver*).

Autogamia: autofertilização; fusão do gameta masculino com o gameta feminino do mesmo indivíduo. Os gametas masculino e feminino que serão fertilizados podem ter origem da mesma flor, no caso de plantas monoicas (*ver*) com flores hermafroditas (*ver*) ou de flores diferentes, no caso de plantas monoicas com flores unissexuais (*ver espécie autógama*).

Autorradiografia: método para determinar a presença e localização de moléculas radioativamente marcadas por meio de imagem produzida em filme fotográfico.

B

Bactéria: grupo de organismos procarióticos unicelulares, pertencentes à divisão protista.

Bacteriófago: vírus que vive nas bactérias causando a sua destruição.

Banco ativo de germoplasma: local onde é mantida uma coleção ativa (*ver*) de acessos que é rotineiramente usada para propósitos de pesquisa, caracterização, avaliação e utilização de recursos genéticos *(ver coleção ativa*).

Banco de germoplasma: local onde é mantida uma coleção de acessos de uma espécie com origens geográfica e ambiental variadas, que é mantida com a finalidade de preservar a sua variabilidade genética (ver) e de constituir em matéria-prima para programas de pesquisa e melhoramento.

Base genética: total da variação genética presente em uma população ou coleção de acessos ou indivíduos. Em princípio, quanto maior for a base genética, maior será a capacidade de a população fazer frente a agentes bióticos e abióticos (*ver*), em benefício de sua perpetuação.

Biblioteca genômica: coleção de fragmentos de DNA genômico (*ver*), clonados em vetores (*ver*) apropriados, representando o genoma (*ver*) total de um organismo. É construída após a digestão parcial do DNA genômico com enzimas de restrição (*ver*). Os fragmentos de DNA resultantes dessa digestão são selecionados por tamanho e ligados em vetores apropriados.

Biodiversidade: diversidade biológica. Biodiversidade: de acordo com a CDB, "Diversidade biológica significa a variabilidade de organismos vivos de todas as origens, compreendendo, entre outros, os ecossistemas terrestres, marinhos e outros ecossistemas aquáticos e os complexos ecológicos de que fazem parte; compreende ainda a diversidade dentro de espécies, ente espécies e de ecossistemas".

Biopirataria: exploração ilegal de recursos naturais – animais, sementes e plantas de florestas brasileiras – e apropriação e monopolização de saberes tradicionais dos povos da floresta, visando lucro econômico.

Bioprospecção: atividade exploratória visando à identificação de componentes do patrimônio genético e informação sobre conhecimento tradicional associado, com potencial de uso.

Biotecnologia: estudo de sistemas ou processos biológicos na produção de bens e serviços, pelos quais recursos naturais são transformados em formas adequadas ao atendimento das necessidades humanas.

Biótico: relativo ou pertencente aos organismos vivos e orgânicos componentes da biosfera. Em ciência agronômica, agente biótico é um termo frequentemente associado a pragas e doenças que reduzem o rendimento das culturas.

Brometo de etídio: substância química intercalante utilizada como corante para a visualização das bandas de DNA em gel submetido à eletroforese. Apresenta fluorescência sob luz ultravioleta e é potencialmente tóxico e mutagênico.

C

Capacidade Específica de Combinação: desvio do comportamento esperado de um genótipo (*ver*) em uma combinação específica com outro genótipo com relação à performance da progênie (*ver*) produzida, tomando como base a sua capacidade geral de combinação (*ver*).

Capacidade Geral de Combinação: comportamento médio de um genótipo em uma série de cruzamentos, com relação à performance das progênies (*ver*) produzidas.

CAPS: vem do inglês *Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*, ou seja, sequência polimórfica amplificada e clivada. São fragmentos de DNA am-

plificados via PCR (*ver*), utilizando-se *primers* (*ver*) específicos (20 pb a 30 pb), seguido da digestão com endonucleases de restrição. É um tipo de marcador genético molecular também conhecido como PCR-RFLP (*ver*).

Característica: atributo estrutural ou funcional de um indivíduo ou acesso que resulta da interação do(s) gene(s) com o ambiente.

Característica agronômica: atributo estrutural ou funcional de um indivíduo ou acesso relacionado à performace produtiva quantitativa e/ou qualitativa (exemplo: produtividade, resistência a doenças, qualidade do fruto, etc.).

Característica ecogeográfica: atributo de um indivíduo ou acesso relacionado ao seu local de coleta, como o tipo de solo, tipo de vegetação predominante, pluviometria média, etc.

Característica fisiológica: atributo de um indivíduo ou acesso relacionado a sua fisiologia, como fotossíntese líquida, transpiração, metabolismo do carbono, metabolismo do nitrogênio, etc.

Característica molecular: atributo de um indivíduo ou acesso obtido com base em análises moleculares, como os marcadores isoenzimáticos (*ver*) e os diferentes tipos de marcadores moleculares do DNA (*ver*).

Característica morfológica: atributo de um indivíduo ou acesso relacionado a sua morfologia, como cor da flor, cor do fruto, forma da folha, etc.

Característica qualitativa: característica que apresenta variação fenotípica com distribuição descontínua, como, por exemplo, a característica cor de flor com os fenótipos branca e vermelha. Essas características têm grande valor em taxonomia e geralmente são controladas por um ou poucos genes.

Característica quantitativa: característica que apresenta variação fenotípica com distribuição contínua, como, por exemplo, a característica

produtividade com os fenótipos variando de 1000 Kg/ha a 3800 Kg/ha. Essas características têm grande valor em programas de melhoramento genético e são controlados por vários genes.

Caracterização: descrição e registro de características morfológicas, agronômicas, ecogeográficas, moleculares de um indivíduo ou acesso.

CDB: acordo internacional resultante da Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e o Desenvolvimento, realizado no Rio de Janeiro, em junho de 1992.

cDNA: cópia de DNA (*ver*) complementar a uma molécula de mRNA (*ver*), sintetizado in vitro utilizando-se a enzima transcriptase reversa. Representam os genes que estão sendo transcritos nas células em determinado momento.

Cepa: subgrupo de uma espécie com uma ou mais características que o distinguem de outros subgrupos daquela espécie.

Cepa-tipo: cepa de uma espécie bacteriana de referência original, descendente de um único isolamento em cultura pura.

Cianobactéria: também denominadas algas azuis, ou algas cianofíceas, são microrganismos com características celulares procariontes (sem membrana nuclear), porém com um sistema fotossintetizante semelhante ao das algas (vegetais eucariontes). Portanto, não podem ser consideradas nem algas nem bactérias comuns, ou seja, são bactérias fotossintetizantes.

Cílios: apêndices das células eucarióticas com movimento constante numa só direção.

Classificação botânica: classificação dos seres vivos em categorias, baseada em semelhanças e diferenças entre eles. Existem diferentes categorias (espécie, gênero, ordem, família, etc.), as quais apresentam características específicas.

Clone: 1) população de células ou indivíduos geneticamente idênticos; 2) descendência que, por propagação assexuada, se originou de uma única planta; 3) população de células que possui um vetor de clonagem com o mesmo inserto; 4) fragmento de DNA isolado do genoma de um organismo ou de um cDNA (*ver*) de um vetor de clonagem.

Coleção ativa: coleção de acessos que é rotineiramente usada para propósitos de pesquisa, caracterização, avaliação e utilização de materiais. A coleção ativa é multiplicada de acordo com a demanda e regenerada periodicamente. O caráter dinâmico da coleção ativa é indicado pelo fato de que acessos entram e saem de seu inventário, conforme decisões gerenciais. Normalmente possui menor tamanho que a coleção base (*ver*). A coleção ativa, geralmente, funciona em dois ciclos: plantas vivas crescendo no campo e sementes armazenadas para regeneração ou multiplicação de materiais. A coleção ativa normalmente corresponde a um subconjunto da coleção base.

Coleção base: coleção abrangente de acessos conservada em longo prazo. A coleção base ideal deve conter amostras representativas dos estoques domesticados da cultura e suas formas parentais silvestres, das espécies silvestres (*ver*) que cruzam com a cultura principal e produzem prole e das espécies silvestres que só cruzam com a cultura principal mediante tratamentos especiais, como fusão de protoplastos (*ver*). A coleção base é vista como uma estratégia de segurança, abrigando em seu acervo a coleção ativa (*ver*) duplicada, e com seus materiais não sendo utilizados para intercâmbio. As coleções base existentes são todas compostas de sementes ortodoxas.

Coleção de germoplasma: coleção de acessos (*ver*) de uma espécie com origens geográfica e ambiental variadas, que é mantida com a finalidade de preservar a sua variabilidade genética (*ver*) e de constituir em matéria - prima para programas de pesquisa e melhoramento.

Coleção de trabalho: coleção de germoplasma com acessos avaliados e mantida para propósitos específicos do melhorista. A coleção é sem-

pre de tamanho limitado e geralmente composta por germoplasma elite. Também conhecida como coleção do melhorista.

Coleção nuclear: é uma coleção que representa com o mínimo de repetição, a diversidade genética de uma espécie cultivada e de suas espécies relacionadas. O conceito de coleção nuclear é aplicado em coleções de germoplasma com 10% a 15% do tamanho da coleção original, representando 70% a 80% da variabilidade genética disponível na coleção inicial. Normalmente, a coleção original é uma coleção base (*ver*). A coleção nuclear não tem como objetivo a substituição de uma coleção base (*ver*) ou coleção ativa (*ver*), nem mesmo de uma coleção de trabalho muito especializada. Um dos principais objetivos é facilitar e viabilizar a caracterização e avaliação de acessos de bancos de germoplasma, o que é fundamental e subsidia a utilização prática de tais recursos genéticos e sua incorporação em programas de melhoramento.

Conídio: esporo de origem assexual.

Conservação ex situ: ação de conservar a variação genética das espécies fora de suas comunidades naturais. Desdobra-se em várias modalidades, entre as quais conservação in vitro, em coleções a campo, em câmaras frias, em nitrogênio líquido etc.

Conservação in situ: ação de conservar plantas e animais em suas comunidades naturais. As unidades operacionais são várias, destacando-se parques nacionais, reservas biológicas, reservas genéticas, estações ecológicas, santuários de vida silvestre etc.

Conservação on farm: é uma estratégia complementar à conservação in situ (*ver*), sendo uma das formas para a conservação da agrobiodiversidade (*ver*). Apresenta como particularidade o fato de envolver recursos genéticos cultivados pelas comunidades locais e populações indígenas, detentoras de grande diversidade de recursos genéticos e de um amplo conhecimento sobre eles. A conservação on farm envolve, portanto, recursos nativos e exóticos adaptados às condições locais, que estão em

contínuo processo de seleção e de melhoramento pelas comunidades locais e populações indígenas.

Corpo de oclusão: grande estrutura cristalina proteica, que contém partículas virais denominadas vírions. Protege dando estabilidade ao vírus fora do hospedeiro. Também conhecido como poliedro.

Criopreservação: conservação de germoplasma à baixa temperatura, normalmente em nitrogênio líquido (-196 ºC).

Cripticidade: características que tornam um organismo menos aparente para seus inimigos.

Cromossomos: estrutura nucleoproteica, localizada no núcleo das células e observada durante a divisão celular. Contém os genes nucleares responsáveis pela transmissão de caracteres hereditários de cada organismo. O número de cromossomos é variável de acordo com a espécie, permanecendo constante dentro da mesma espécie.

Cromossomos homólogos: são cromossomos (*ver*) que apresentam a mesma morfologia e são portadores dos mesmos genes (*ver*). Pareiam-se durante o processo de divisão celular.

Crossing-over: troca recíproca de segmentos entre cromossomos homólogos, que ocorre durante a meiose, sendo responsável pela recombinação genética (*ver*).

D

Dados binários: é um sistema de numeração ou codificação de dados, que normalmente utiliza os números 0 e 1 para representar todas as informações. É um sistema muito importante utilizado pelos computadores para realizar todas suas operações. Na genética molecular, os dados binários são muito utilizados para codificação de marcadores moleculares, onde a presença da marca é codificada como 1 e ausência como 0.

DAF: vem do inglês *DNA Amplification Fingerprinting*. É uma estratégia para detecção de diferenças genéticas entre organismos por meio da amplificação do DNA genômico (*ver*), utilizando-se um único *primer* (*ver*) de sequência arbitrária.

DAMD: vem do inglês *Directed Amplification of Minisatellite-region DNA*. É uma técnica de obtenção de marcadores genéticos moleculares amplificados via PCR (*ver*) usando um único *primer* (16-20 pb) construído a partir de sequência de minissatélites.

Descritores ecológicos: são descritores baseados em características ecogeográficas (*ver*).

Descritores: características mensuráveis ou subjetivas de um acesso, como altura da planta, cor da flor, comprimento do pecíolo, forma da folha etc. Os descritores são agrupados sob a forma de lista de descritores, uma para cada cultura em particular, e são aferidos pelo estado do descritor, ou seja, as categorias reconhecidas como válidas para aquele descritor (ex.: cor de flor: 1. rosa 2. amarelada 3. azulada 4. arroxeada; cor de pecíolo: 1. verde 2. verde-avermelhado 3. vermelho-esverdeado 4. vermelho). Descritores são aplicados na caracterização e avaliação de coleções de germoplasma (*ver*).

Desnaturação: (1)Separação física das duas cadeias complementares de DNA. Ocorre pelo aquecimento do DNA ou por tratamento químico com substâncias caotrópicas (por exemplo, ureia) ou com pH alcalino, resultando no rompimento das pontes de hidrogênio que unem as duas cadeias. (2) Modificação da estrutura tridimensional de proteínas, acompanhada da perda da respectiva função.

DGGE: vem do inglês *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*. É uma técnica de separação de marcadores genético moleculares do DNA amplificados via PCR (*ver*) por meio de eletroforese em géis desnaturantes com concentrações de formamida/ureia.

Diatomáceas: grupo de protistas fitoplantônicos pertencentes à classe de algas (*Bacillariophyta*) que apresentam paredes celulares de sílica e vivem nos oceanos, em água doce, no solo e em superfícies úmidas.

Dioica: espécie ou vegetal que apresenta flores masculinas e femininas em indivíduos diferentes.

Diversidade: variabilidade; a existência de diferentes formas, em qualquer nível ou categoria. Em genética, há uma tendência de associar diversidade com o nível macro, como, por exemplo, diversidade de espécies ou diversidade de flores.

Diversidade funcional: diversidade (*ver*) associada a características agronômicas (*ver*) ou de interesse para os usuários de recursos genéticos.

Diversidade genética: muitas vezes utilizada como sinônimo de variabilidade genética (*ver*).

DNA: vem do inglês *Deoxyribonucleic Acid*, ou seja, ácido desoxirribonucleico. É o material genético básico da maioria dos organismos. O DNA é formado por uma sequência de quatro diferentes nucleotídeos (*ver*) ligados covalentemente. Contém as informações genéticas determinantes das características hereditárias transmitidas à descendência.

DNA chip: é uma técnica também conhecida por gene chip e DNA *microarrays* (*ver*). Tal tecnologia utiliza uma microlâmina (microchip) de aproximadamente 1 cm^2 contendo milhares de sequências de DNA ordenadas e permite análises simultâneas de milhares de marcadores genético moleculares ou sequências de cDNA (*ver*) baseadas na hibridização com sondas específicas.

DNA genômico: DNA (*ver*) representativo do genoma (*ver*) do organismo.

DNA microarray: são microarranjos de milhares de sequências de DNA dispostas ordenadamente em uma microlâmina (microchip) utilizados na tecnologia do DNA chip (*ver*).

E

Eletroforese: técnica para separação de ácidos nucleicos, proteínas e outras moléculas, que diferem em tamanho e carga, com base na sua mobilidade relativa quando submetidos a um campo elétrico.

Embrião somático: embrião formado a partir de células somáticas.

Endofíticos: microrganismos de ocorrência natural no interior dos tecidos das plantas.

Endonuclease: enzima que catalisa a reação de quebra das ligações fosfodiéster em moléculas de ácidos nucleicos. Ao contrário das exonucleases, que clivam a molécula a partir de suas extremidades, as endonucleases clivam em regiões internas da molécula.

Endósporos: esporos de bactéria formados dentro da célula e extremamente resistentes ao calor e a outros agentes prejudiciais.

Engenharia genética: conjunto de técnicas de genética e biologia molecular que visam à obtenção de moléculas de DNA recombinantes, bem como os procedimentos que resultam em uma modificação controlada do genótipo de um organismo. A engenharia genética tem sido empregada para a produção de vacinas, insulina, hormônios de crescimento, antibióticos e organismos geneticamente modificados (organismos transgênicos) com características de interesse.

Enxerto: parte viva de um vegetal inserida em outra planta para aumentar a produtividade, resistência a doenças e favorecer a multiplicação. O mesmo que "cavaleiro".

Enzimas de restrição: endonucleases (*ver*) que clivam moléculas de DNA em uma sequência específica. São enzimas produzidas por bactérias, para funcionarem como mecanismo de defesa contra a incorporação de DNAs exógenos, como os dos bacteriófagos. Essa propriedade de clivar moléculas de DNA em sítios específicos é extremamente importante em técnicas de engenharia genética (*ver*).

Enzimas extremofílicas: enzimas que atuam em uma ampla gama de condições ambientais.

Erosão genética: perda de variabilidade genética de uma espécie. A perda pode atingir populações ou um genótipo particular, com a supressão de genes e(ou) séries alélicas do reservatório gênico (*ver*) da espécie.

Esclerócios: estruturas formadas por hifas fortemente entrelaçadas, rica em substâncias de reserva, resistentes às condições desfavoráveis, capazes de originar um novo indivíduo em condições ambientais favoráveis.

Espécie: conjunto de populações cujos indivíduos são capazes de se cruzar com sucesso em condições naturais, e que são isoladas reprodutivamente de outras espécies. No caso de microrganismos, existe a ressalva de que a diversidade de espécies é baseada nas diferenças genéticas, não significando estas, necessariamente, espécies biológicas.

Espécie alógama: espécie em que as plantas se reproduzem predominantemente por fertilização cruzada ou alogamia (*ver*). Normalmente a reprodução sexual dessas espécies apresenta mais de 40% de fertilização cruzada ou alogamia (*ver*).

Espécie autógama: espécie em que as plantas se reproduzem predominantemente por autofecundação ou autogamia (*ver*). Normalmente a reprodução sexual dessas apresenta mais de 95% de autofertilização ou autogamia (*ver*).

Esporos: pequenas unidades de propagação que funcionam como sementes, mas que se diferenciam destas por não possuírem embrião préformado.

Estabilidade genética: manutenção de um determinado índice de equilíbrio genético, seja em nível do indivíduo, da população ou da coleção de germoplasma.

Explante: segmento de tecido ou órgão vegetal utilizado para iniciar uma cultura in vitro.

Expressão gênica: processo de conversão da informação de um gene em RNA mensageiro e este em uma proteína funcional. Manifestação de uma característica codificada por um gene.

F

Fagocitose: ingestão de grandes partículas (bactéria ou outros corpos estranhos), pela membrana celular de uma célula geralmente maior formando um fagossoma ou um vacúolo alimentar.

Fenótipo: aparência de um indivíduo como resultado da interação de seu genótipo (*ver*) com um determinado ambiente. Formas alternativas de características observáveis de um organismo. Por exemplo, a característica cor de flor pode ter, por exemplo, flor branca ou flor roxa como fenótipos.

Fermentação lática: processo microbiano que consiste na oxidação anaeróbica, parcial de hidratos de carbono, com a produção final de ácido lático além de várias outras substâncias orgânicas. É de grande aplicação na produção de laticínios, picles e chucrute, bem como na conservação de forragens. Por outro lado, este processo é responsável pela deterioração de vários produtos agrícolas.

Filogenia: história das linhas de evolução em um grupo de organismos. História evolutiva de categorias como espécie, gênero ou família.

Filoplano: superfície foliar.

Filosfera: ambiente sobre a superfície das folhas ou zona mais próxima das folhas.

Fingerprinting: impressão digital. Na genética molecular, *fingerprinting* é um perfil de marcadores moleculares polimórficos (DNA ou proteínas) que pode ser utilizado para a identificação ou caracterização de um indivíduo.

Fixação de nitrogênio: redução de gás nitrogênio atmosférico à amônia.

Flagelos: apêndices de certas células vivas em forma de filamento helicoidal que servem para a locomoção.

Fluorescência: técnica analítica em que moléculas são excitadas por absorção de uma radiação eletromagnética. Quando as espécies excitadas relaxam para o estado fundamental, liberam o seu excesso de energia na forma de fótons. Quando essa relaxação ocorre em tempos inferiores a 10^{-5} segundos, chama-se fluorescência, enquanto, em tempos superiores, fosforescência, chegando de minutos ou até horas.

Fotodocumentação: documentação por meio de fotografias.

Frequência gênica: número ou proporção dos diferentes alelos (*ver*) de um determinado loco (*ver*) em uma população. Também chamada de frequência alélica.

Fungos filamentosos: são microrganismos multicelulares e apresentam as suas células organizadas como filamentos muito longos e ramificados, denominados hifas.

G

Gene: unidade básica, física e funcional da hereditariedade (*ver*). Combinação de segmentos de DNA que leva à formação de um ou mais produtos de função específica, que podem ser moléculas de RNA ou polipeptídeos. Os segmentos de um gene incluem uma região promotora, uma codificadora e uma terminadora. Tais segmentos estão localizados em uma região específica de um determinado cromossomo e participam da manifestação do fenotípo (*ver*) de uma certa característica (*ver*). Tal manifestação está associado ao gene, à interação deste com outros genes e com o meio ambiente.

Genealogia: linhas ancestrais (ascendência e/ou descendência) de um indivíduo, de modo a definir quais são os seus parentes. Pode ser representada graficamente pela chamada árvore genealógica (*ver*)

Genes conservados: genes mantidos em diferentes genomas ao longo da evolução. Tendem a preencher funções mais básicas e essenciais.

Genética molecular: estudo da estrutura física, funcional e molecular dos genes (*ver*) no controle de atividades celulares e da sua organização dentro dos genomas (*ver*).

Genoma: é o conteúdo total de DNA (*ver*) no grupo de cromossomos (*ver*) correspondente ao conjunto haploide (n) de um organismo. Esse termo é também empregado para o conteúdo total de DNA de um organismo.

Genômica estrutural: atividades de projetos genoma (*ver*) relacionadas à caracterização e localização de sequências que formam a estrutura do DNA e dos genes.

Genômica funcional: consiste na sistematização da informação sobre a função dos genes, mediante aplicações de aproximações experimentais que avaliam a função dos genes, utilizando-se da informação e dos elementos da genômica estrutural (*ver*). O objetivo central da genômica funcional é fazer o elo entre o conhecimento das sequências de um gene e o conhecimento de sua função, e, assim, desvendar o comportamento dos sistemas biológicos.

Genótipo: somatório de genes (*ver*) presentes nos cromossomos (*ver*), determinando a constituição genética de um organismo que, atuando juntamente com fatores ambientais, determina o fenótipo (*ver*). Esse termo também é usado para a constituição genética relativa aos alelos (*ver*) em um ou poucos locos (*ver*) em observação.

Grupo de ligação: grupos de genes (*ver*) ou locos (*ver*) interligados fisicamente no mesmo cromossomo (*ver*).

Grupo heterótico: é uma população de genótipos (*ver*), indivíduos ou acessos que apresentam alta capacidade específica de combinação (*ver*).

H

Halófilos: microrganismos que requerem quantidades de sal (cloreto de sódio) de médias a grandes. São normalmente bactérias que vivem nos oceanos onde a concentração de sal, em torno de 3,5%, é ótima para o seu crescimento. As halófilas extremas requerem concentrações de sal de 20 a 30%, sendo encontradas em corpos d'água excepcionalmente salgados, tais como o Mar Morto ou mesmo em barris de conserva em salmora, onde podem causar deterioração dos picles quando estão sendo preparados.

Hereditariedade: transmissão de características dos genitores à progênie (*ver*) através dos genes (*ver*).

Hermafrodita: 1) Em planta, é a flor que reúne os aparelhos masculino (androceu) e feminino (gineceu) na mesma estrutura floral (exemplo: flor de goiabeira); 2) em animais, é o indivíduo que reúne os dois sexos no mesmo genótipo (exemplo: caramujo).

Heterose: vigor híbrido que ocorre quando o comportamento do híbrido (*ver*) se situa acima da média de seus genitores. Geralmente, esse termo se aplica a tamanho, velocidade de crescimento ou características agronômicas (*ver*).

Heterozigose: condição na qual existem alelos (*ver*) diferentes em locos (*loci*) (*ver*) correspondentes de cromossomos homólogos (*ver*). Um indivíduo pode ser heterozigoto em um, vários ou em todos os locos correspondentes.

Híbrido: produto do cruzamento de dois ou mais genitores geneticamente distintos.

Hifas: arranjo de células somáticas em longo e ramificado filamento que em conjunto com outras hifas forma o talo de um fungo (micélio).

Homologia de sequência: são duas ou mais sequências de ácidos nucleicos do DNA ou de aminoácidos das proteínas que possuem regiões iguais ou semelhantes.

Homonímia: é a relação entre duas ou mais palavras que, apesar de possuírem significados diferentes, possuem a mesma estrutura fonológica. Em recursos genéticos, é usada quando existe o mesmo nome para diferentes acessos.

Homozigose: condição na qual existem alelos (*ver*) iguais em locos (*loci*) (*ver*) correspondentes de cromossomos homólogos (*ver*). Um indivíduo pode ser homozigoto em um, vários ou em todos os locos correspondentes.

Hospedeiro: organismo vivo que hospeda, serve de substrato e/ou de fonte de energia para outro, denominado parasita, tornando-se o local onde o outro organismo (parasita) vive.

I

Índices de similaridade e distância genética: valores numéricos utilizados para quantificar a similaridade e a distância genética (*ver*).

Indígena: microrganismo nativo a um dado ambiente, sendo também chamado organismo nativo.

Inóculo: estrutura reprodutiva de um fungo, unidade bacteriana e partícula de vírus que, ao penetrarem em uma planta, são capazes de induzir doença.

IRAP: vem do inglês *Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism*. É um tipo de marcador molecular baseado na detecção de variação em sítios de inserção de *retrotransposons* (*ver*). Fragmentos de DNA são amplificados via PCR (*ver*) usando *primers* (*ver*) desenhado a partir das regiões de terminação conservadas (LTRs – *Long Terminal Repeats*) (*ver retrotransposons*).

Isoenzima: grupo de múltiplas formas moleculares da mesma enzima que ocorre em uma espécie, como resultado da presença de mais de um gene (*ver*) codificando cada uma das enzimas. As diferentes isoenzimas são resultantes de variações alélicas dos genes codificadores. A técnica de detecção de isoenzimas envolve a preparação da amostra do tecido, a separação por eletroforese dos polimorfismos (*ver*) em géis de poliacrilamida ou de amido e a visualização dos polimorfismos por meio de corantes enzimáticos específicos.

ISSR: vem do inglês *Inter Simple Sequence Repeats*. São fragmentos de DNA de 100 pb a 3000 pb amplificados via PCR usando um único *primer* (16 pb-20 pb) construído a partir de sequência de microssatélites.

L

Leveduras: como os bolores, são fungos, mas se diferenciam destes por se apresentarem, usual e predominantemente, sob a forma unicelular.

Ligação gênica: associação na herança de certos genes devido a sua localização no mesmo cromossomo. Com a ligação gênica, os genes apresentam segregação (*ver*) dependente.

Linhagem de microrganismo: conjunto de microrganismos, dentro de uma espécie, que possuem as mesmas características.

Loco: o mesmo que *locus*. *Loci* é o plural de *locus*. Local específico que um gene (*ver*) ocupa em um cromossomo. Todos os alelos (*ver*) de um gene em particular de vários indivíduos ocupam o mesmo loco.

LRR: vem do inglês *Leucine Rich Repeats*. Domínio proteico comum em proteínas codificadas por genes de resistência a doenças. Proteínas com domínio LRR apresentam uma ou mais séries de 24 ou mais aminoácidos leucina repetidos a intervalos regulares, os quais formam uma estrutura terciária em forma de hélice. Proteínas com domínio LRR normalmente reconhecem produtos extracelulares de genes de fitopatógenos e iniciam as respostas de defesa ao enviar sinais para outras células da planta.

M

MAAP: vem do inglês *Multiple Arbitrary Amplicon Profiling*. É um termo coletivo para as técnicas de PCR (*ver*) que utilizam *primers* (*ver*) de sequência arbitrária, como os marcadores RAPD (*ver*), AFLP (*ver*), DAF (*ver*), entre outros.

Macrofungo: fungos multicelurares e macroscópicos denominados cogumelos.

Mapeamento genético: processo de determinação da ordem linear e das distâncias relativas entre os vários locos (*loci*) (*ver*) ou genes (*ver*) em um ou vários cromossomos de um genoma (*ver*). As distâncias relativas entre os genes são estimadas pela frequência de recombinação entre eles, de modo que, quanto maior a frequência de recombinação, maior a distância relativa.

Marcador codominante: é um tipo de marcador que permite a observação de ambos alelos (*ver*) em um loco em heterozigose (*ver*). Fornece informações sobre a freqüência alélica (*ver frequência gênica*) em cada loco, nível de heterozigose e permite a diferenciação dos locos em heterozigose e homozigose (*ver*). São exemplos, microssatélites (*ver*), RFLP (ver), entre outros.

Marcador dominante: é um tipo de marcador que não permite a observação de ambos os alelos (*ver*) em um loco em heterozigose (*ver*), ou seja, não difere os locos em heterozigose dos locos em homozigose (*ver*). São exemplos, RAPD (*ver*), AFLP (*ver*), entre outros.

Marcador genético: qualquer característica, processo bioquímico ou fragmentos de DNA que permitem a distinção de indivíduos geneticamente diferentes. O marcador genético pode ser facilmente identificado fenotipicamente e utilizado no mapeamento genético (*ver*).

Marcador isoenzimático: é um tipo de marcador genético (*ver*) molecular baseado na detecção de isoenzimas (*ver*). Também é considerado um marcador bioquímico.

Marcador molecular: é um tipo de marcador genético (*ver*) baseado na detecção de isoenzimas (*ver*) ou sequências de DNA. Existem diferentes tipos de marcadores moleculares como os RAPD (*ver*), RFLP (*ver*), AFLP (*ver*), microssatélites (*ver*) etc.

Marcador multialélico: é um tipo de marcador genético (*ver*) que permite a observação de diferentes alelos (*ver*) de um determinado loco (*ver*).

Material propagativo: material utilizado para a propagação ou multiplicação vegetativa de uma planta. Também chamado de propágulo. A propagação pode ser sexual ou assexual. São exemplos de material propagativo, sementes, estacas, mudas, borbulhas etc.

Mecanismo de envelopamento: processo envolvido na aquisição de envelope membranoso pelo(s) nucleocapsídeo(s) formando o vírion.

Mecanismo parassexual: processo no qual é possível ocorrer fecundação e recombinação genética, que consiste na união ocasional de diferentes hifas monocarióticas (de indivíduos diferentes) originando uma hifa heterocariótica em que ocorre fusão nuclear e "crossing-over" mitótico.

Melhoramento genético: é a arte e a ciência de modificar, controlar e manter as características hereditárias de plantas ou animais, visando suprir melhor as necessidades humanas.

Mentanogenes (metanogênicas): um dos grupos de arqueobactérias que produz gás metano.

Métodos hierárquicos: são procedimentos utilizados em análises de agrupamento (*ver*), que envolvem a construção de uma hierarquia aglomerativa ou divisiva, em que dados, indivíduos ou acessos vão sendo combinados passo-a-passo, não havendo um número pré-definido de grupos a serem formados.

Microfilos: folhas reduzidas de poucos milímetros, desprovidas de pecíolo, sem vascularização ou com apenas uma veia, presentes em pteridófitas licófitas.

Microrganismos: nome genérico para todos os organismos invisíveis a olho nu, normalmente, menores que 0,1 mm. Vírus são também incluídos, embora não possam viver nem reproduzir por si mesmos.

Microssatélites: são sequências do DNA muito curtas (2 pb a 5 pb) repetidas em tandem (lado a lado). Marcadores microssatélites também são conhecidos como SSR (*Simple Sequence Repeats*) (*ver*).

Minissatélites: são sequências do DNA de 10 pb a 100 pb repetidas em tandem (lado a lado). O número de repetições dessas sequências em cada região hipervariável pode chegar a 50. As regiões hipervariáveis estão distribuídas por todo genoma (*ver*), constituindo vários locos (*loci*) (*ver*) nos diferentes cromossomos (*ver*). Também são conhecidos por VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*) (*ver*).

Monofilético: grupo taxonômico que tem origem a partir de um único ancestral comum.

Monoica: espécie ou vegetal que apresenta flores masculinas e femininas separadas, porém no mesmo indivíduo.

Movimento ameboide: movimento por meio de pseudópodos que ocorre em células sem parede celular, tais como as amebas e alguns leucócitos.

Mutação: variação herdável em um gene ou no número e estrutura cromossômica. As mudanças no genoma (*ver*) dividem-se em duas categorias: mutação cromossômica (*ver*) e mutação gênica (*ver*).

Mutação cromossômica: mutação do tipo aberração cromossômica, que afeta a estrutura e o número de cromossomos ou o número dos genes num cromossomo. Exemplos de mutação cromossômica são a deleção, a duplicação, a inversão, a translocação, a aneuplodia e a euploidia.

Mutação gênica: processo responsável pela produção de novos alelos (*ver*) através da alteração na sequência de nucleotídeos (*ver*) do DNA (*ver*).

N

NBS: vem do inglês *Nucleotide Binding Site*. É um tipo de domínio proteico comum em proteínas codificadas por genes de resistência a doenças. Proteínas com domínio NBS normalmente reconhecem produtos extracelulares de genes de fitopatógenos e iniciam as respostas de defesa ao enviar sinais para outras células da planta.

Nematoide: organismo parasita de forma cilíndrica que ataca as raízes das plantas, especialmente as folhosas.

Nicho ecológico: espaço ocupado por um organismo no ecossistema, incluindo também o seu papel na comunidade e a sua posição em gradientes ambientais de temperatura, umidade, pH, solo e outras condições de existência.

Nomenclatura: atribuição de nomes a organismos e às categorias nas quais são classificados.

Nucleocapsídeo: estrutura básica de um vírus em que o ácido nucleico é envolvido por um capsídeo proteico ou envelope.

Nucleotídeo: unidade básica (monômeros) dos ácidos nucleicos (DNA e RNA). São moléculas complexas compostas por três subunidades: grupamento fosfato, açúcar (ribose ou desoxirribose) e uma base nitrogenada (adenina, timina, uracila, citosina e guanina).

P

Parasitismo: relação simbiótica na qual um organismo, parasita, beneficia-se, com prejuízo para outro organismo, o hospedeiro.

Patogenicidade: a capacidade de um organismo causar doença.

Patógeno: organismo capaz de atacar outros organismos vivos (plantas e animais) e causar doenças. São, geralmente, bactérias, fungos, protozoários ou vírus.

PCR: vem do inglês *Polymerase Chain Reaction*, ou seja, reação em cadeia da polimerase. É um técnica que envolve a síntese enzimática in vitro de sequências DNA alvo, as quais são duplicadas a cada ciclo criando uma reação em cadeia, pois cada molécula sintetizada pode servir de molde para o próximo ciclo. A reação de PCR possui três fases: a desnaturação, o anelamento de *primers* (*ver*) e a polimerização, a qual é feita pela DNA polimerase. Muitos marcadores genéticos moleculares são obtidos por meio da PCR, como RAPD (*ver*), AFLP (*ver*), microssatélites (*ver*), entre outros.

PCR-RFLP: é um tipo de marcador genético molecular do DNA que combina as propriedades da PCR (*ver*) e dos marcadores RFLP (*ver*). Esse tipo de marcador também é conhecido como CAPS (*ver*).

PCR-sequencing: determinação da sequência de nucleotídeos de um fragmento de DNA amplificado via PCR utilizando *primers* (*ver*) específicos (15 pb a 30 pb) para uma determinada região do genoma em estudo. Para a determinação da sequência de nucleotídeos, existem, hoje, os sequenciadores automáticos muito utilizados nos projetos genoma (*ver*). O PCR-sequencing é muito útil em estudos taxonômicos (*ver taxonomia*) interespecíficos, como, por exemplo, estudos de reconstrução filogenética (*ver filogenia*).

Pedigree: genealogia (*ver*) de um indivíduo ou de uma população.

Planta daninha: erva invasora ou erva daninha - espécie vegetal, nativa ou introduzida- que cresce em local e/ou momento inadequado e que compete por água, luz e nutrientes com a espécie cultivada ou que se deseja preservar.

Plantas perenes: são plantas que têm o ciclo biológico superior a dois anos.

Plasmídeo: DNA circular, fita dupla, extracromossomal e de replicação autônoma. Geralmente, é encontrado no citoplasma de células bacteria-

nas. Os plasmídeos são muito utilizados em técnicas de engenharia genética (*ver*).

Plasticidade: mudanças morfológicas e (ou) fisiológicas em um organismo, resultantes da influência de fatores ambientais sobre a expressão do genótipo desse indivíduo.

Polifilético: grupo taxonômico composto por indivíduos descendentes de linhagens diferentes, isto é, não têm uma origem comum.

Polimorfismo: ocorrência regular e simultânea na mesma população heterozigota de dois ou mais tipos distintos de formas. Em genética, é a ocorrência em uma população de dois ou mais alelos (*ver*) onde o alelo mais raro é encontrado em uma frequência maior que 1%. Em genética molecular, o termo polimorfismo é usado para indicar a presença de diferentes moléculas proteicas ou fragmentos de DNA no mesmo loco (*ver*).

População: grupo de indivíduos que compartilham de um mesmo grupo de genes.

Porta-enxerto: ramo ou tronco que recebe o enxerto. O mesmo que "cavalo".

Primers: oligonucleotídeo de DNA ou RNA que hibridiza com uma cadeia de DNA molde e fornece uma extremidade 3´-Hidroxila livre para a iniciação da síntese e amplificação de uma sequência de DNA pela DNA polimerase. Em português, é chamado iniciador. Os iniciadores (*primers*) são muito utilizados em biologia molecular para marcação de sondas de DNA e em reações de PCR (*ver*) para obtenção de marcadores moleculares do DNA.

Progênie: descendência, geração, prole.

Projeto genoma: terminologia usualmente utilizada para um conjunto de atividades e tecnologias que visam estudar o genoma (*ver*). Essas atividades e tecnologias são utilizadas para identificar, mapear, determinar

as sequências de nucleotídeos, armazenar em bancos de dados e analisar essa informação, tornando-a acessível para pesquisas biológicas. O objetivo final é descobrir a estrutura física e funcional de todos os genes (*ver*) de um determinado genoma (ver).

Protoplasto: célula vegetal desprovida da parede celular.

Protozoários: microrganismos eucarióticos e unicelulares. Como os animais, eles ingerem partículas alimentares, não apresentam parede celular rígida e também não contém clorofila.

Q

QTL: vem do inglês *Quantitative Trait Loci*. São locos (*loci*), regiões cromossômicas, associados ou ligados a marcadores genéticos, que têm efeito sobre características quantitativas (*ver*).

R

RAPD: vem do inglês *Random Amplified Polymorphic DNA*, ou seja, DNA polimórfico amplificado ao acaso. São fragmentos de DNA amplificados pela PCR (*ver*) utilizando *primers* curtos (geralmente dez nucleotídeos) de sequência aleatória. Como o *primer* possui sequência aleatória, a sequência alvo da amplificação é desconhecida.

RBIP: vem do inglês *Retrotransposon Based Insertional Polymorphism*. É um tipo de marcador molecular codominante (*ver*) amplificado via PCR (*ver*) utilizando *primers* desenhados a partir de *retrotransposon* e suas regiões flanqueadoras. A presença ou ausência da inserção de *retrotransposons* são investigadas com base em duas PCRs: a primeira PCR usando um *primer* desenhado a partir do *retrotransposon* e outro a partir de uma região flanqueadora e a segunda PCR usando *primers* desenhados a partir das duas regiões flanqueadoras.

Recombinação genética: formação de combinações de genes (*ver*) como resultado da segregação em cruzamentos entre progenitores geneticamente distintos. É também o rearranjo de genes ligados causado pela permuta ou *crossing over*.

Recursos genéticos: variabilidade de espécies de plantas, animais e microrganismos integrantes da biodiversidade (*ver*), de interesse socioeconômico atual e potencial para utilização em programas de melhoramento genético, biotecnologia e outras ciências afins.

Regeneração: reprodução de um acesso para manutenção de sua integridade genética. Na coleção base (ver) e coleção ativa (ver), é feita no campo quando as sementes armazenadas perdem a viabilidade para cerca de 80% do poder germinativo inicial. Na conservação in vitro, refere-se à transferência para casa de vegetação e (ou) campo das plântulas competentes do acesso com a finalidade de permitir o revigoramento das mesmas. Na criopreservação (ver), refere-se à obtenção de plantas a partir de meristemas, ápices caulinares, embriões e células armazenadas. Em cultura de tecidos, refere-se à formação de brotações ou embriões somáticos (ver) a partir do explante (ver) cultivado, possibilitando a obtenção de plantas inteiras.

REMAP: vem do inglês Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism. É um tipo de marcador molecular baseado na detecção de variação em sítios de inserção de retrotransposons (ver). Fragmentos entre retrotransposons (ver) e microssatélites (ver) são amplificados via PCR (ver) usando um primer (ver) baseado nas regiões de terminação conservadas (LTRs – Long Terminal Repeats) (ver retrotransposons) e outro baseado em regiões de microssatélites (ver).

Reservatório gênico: totalidade dos genes presentes em uma determinada população de um organismo de reprodução sexuada, em um determinado momento. Geralmente, o conceito se aplica aos membros de populações de uma mesma espécie com fertilidade comum maior devido

ao relacionamento filogenético, mas situações desviantes podem ocorrer com a fertilidade comum atingindo outras espécies e até mesmo gêneros.

Residentes: microrganismos sempre presentes ou de ocorrência natural sobre ou dentro de um organismo.

Retrotransposons: compreendem a classe mais comum de transposons (ver) e ocorrem em grande número de cópias em genomas de plantas. São transposons que se mobilizam no genoma hospedeiro por um intermediário de RNA, de forma replicativa. Possuem longas terminações repetidas de mesma direção (LTRs – Long Terminal Repeats) de ambos os lados.

RFLP: vem do inglês Restriction Fragment Length Polymorphism, ou seja, polimorfismo do comprimento de fragmentos de restrição. São fragmentos de DNA obtidos com o uso de enzimas de restrição (ver), separados por eletroforese (ver) e visualizados por meio de hibridizações com sondas (ver) de sequências homólogas (ver) marcadas com radioatividade ou fluorescência.

Rizóbio: bactéria heterotrófica com capacidade de formar nódulos simbióticos nas raízes de plantas, principalmente das da família leguminosa, fixando nitrogênio atmosférico, que é utilizado pela planta.

Rizoplano: superfície das raízes colonizadas por microrganismos.

Rizosfera: volume do solo ao redor das raízes e que fica sob influência das mesmas.

RNA: vem do inglês Ribonucleic Acid, ou seja, ácido ribonucleico. Molécula linear constituída de uma cadeia única, contendo quatro diferentes nucleotídeos (ver) ligados covalentemente. Estruturalmente, a molécula de RNA é similar a de DNA, porém, na molécula de RNA, o açúcar presente é a ribose e, no lugar da base nitrogenada timina, está presente a uracila. Existem diferentes tipos de moléculas de RNA, o RNA mensageiro (RNAm), o RNA ribossômico (RNAr) e o RNA transportador

(RNAt). O RNA é sintetizado a partir de uma molécula-molde de DNA pelo processo de transcrição, possuindo a função de transferir a informação a informação genética do DNA para a biossíntese proteica (tradução). Certos vírus possuem RNA como material genético que, em alguns casos, pode ser sintetizado usando o próprio RNA viral como molde.

S

S-SAP: vem do inglês *Sequence-Specific Amplified Polymorphism*. É um tipo de marcador molecular baseado na detecção de variação em fragmentos de DNA que flanqueiam sítios de inserção de *retrotransposons* (*ver*). Os fragmentos são amplificados via PCR (*ver*) usando um *primer* (*ver*) desenhado a partir das regiões de terminação conservadas (LTRs – *Long Terminal Repeats*) (*ver retrotransposons*) e outro baseado na presença de um sítio de endonucleases de restrição (*ver enzimas de restrição*) próximo às LTRs.

Saprófita: organismo que obtém os elementos nutritivos de tecidos orgânicos mortos ou de matérias inorgânicas.

SCAR: vem do inglês *Sequence Characterized Amplified Regions*, ou seja, regiões amplificadas a partir de sequências caracterizadas. É um tipo de marcador genético molecular amplificado com *primers* (*ver*) específicos, desenvolvidos com base em sequências já caracterizadas. Muitos desses marcadores são obtidos a partir da conversão de marcadores RAPD (*ver*). Para essa conversão, o fragmento RAPD é sequenciado e *primers* (*ver*) específicos são construídos para a amplificação.

Segregação: separação dos cromossomos parentais na meiose e consequente separação dos genes, o que torna possível a recombinação genética (*ver*) na progênie (*ver*).

Seleção: discriminação entre indivíduos quanto ao número de descendentes que são preservados para a geração seguinte. Significa favorecer determinados indivíduos em relação a outros.

Seleção recorrente: é um método de melhoramento genético utilizado para aumentar gradativamente a frequência de alelos desejáveis para uma característica quantitativa, por meio de repetidos ciclos de seleção, sem reduzir a variabilidade genética da população (*ver*). A seleção recorrente envolve três etapas: a) desenvolvimento de progênies (*ver*), b) avaliação de progênies e c) recombinação das progênies superiores para formar a geração seguinte.

Sequenciamento do DNA: determinação da sequência de nucleotídeos (*ver*) do DNA.

Sequências homólogas: são duas ou mais sequências de nucleotídeos (*ver*) em ácidos nucleicos (*ver DNA e RNA*) ou de aminoácidos em proteínas iguais ou semelhantes.

SFLA: vem do inglês *Selective Fragment Length Amplification*. É um tipo de marcador genético molecular sinônimo dos marcadores AFLP (*ver*).

Simbiontes: organismos que se associam interespecífica harmonicamente, com benefícios mútuos e interdependência metabólica.

Sinonímia: é a relação que se estabelece entre duas palavras ou mais que apresentam significados iguais ou semelhantes. Em recursos genéticos, é usada quando existem diferentes nomes para o mesmo acesso.

Sistema de classificação: conjunto de normas e princípios segundo os quais as espécies e grupos de espécies são descritas e classificadas dentro de categorias taxonômicas.

Sistema de cruzamento: sistema natural pelo qual uma espécie sexuada se reproduz. Há dois tipos principais de sistemas de cruzamento: autogamia (*ver*) e alogamia (*ver*).

Sistemática: ciência dedicada a inventariar e descrever a biodiversidade e compreender as relações filogenéticas entre os organismos.

SNP: vem do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*. É um tipo de marcador molecular do DNA utilizado para identificar mutações e polimorfismos baseados na posição de um único nucleotídeo, necessitando de informações de sequenciamento do DNA para o desenho de *primers* e sondas específicas.

Sondas: molécula marcada que se liga especificamente a um ácido nucleico ou a uma proteína que está sendo procurada, de forma que as moléculas-alvo possam ser detectadas. Sondas de ácidos nucleicos são DNAs ou RNAs, marcadas radioativa ou quimicamente, complementares a essas sequências. As sondas são muito utilizadas em tecnologias de genética e biologia molecular.

SPAR: vem do inglês *Single Primer Amplification Reaction*, ou seja, reação de amplificação com *primer* (*ver*) único. É uma técnica para obtenção de marcadores genéticos moleculares do DNA por meio da amplificação via PCR (*ver*) usando um único *primer* (16 pb-20 pb) construído a partir de sequência de microssatélites.

SRFA: vem do inglês *Selective Restriction Fragment Amplification*. É um tipo de marcador genético molecular sinônimo dos marcadores AFLP (*ver*).

SSCP: vem do inglês *Single-Strand Conformation Polymorphism*. São fragmentos de DNA de 200 pb a 800 pb amplificados via PCR usando *primers* (*ver*) específicos, os quais são desnaturados para fita simples e separados por eletroforese. O princípio desse tipo de marcador é que a eletroforese da fita simples do DNA permite a detecção da variação da sequência de nucleotídeos de cada fragmento, responsável por sua estrutura secundária. As técnicas de DGGE (*ver*) e TGGE (*ver*) são utilizadas na obtenção desses marcadores genéticos moleculares.

SSLP: vem do inglês *Simple Sequence Length Polymorphisms*. É um tipo de marcador molecular do DNA baseado na detecção de microssatélites (*ver*), sinônimo de SSR (*ver*).

SSR: vem do inglês *Simple Sequence Repeats*. É um tipo de marcador molecular do DNA baseado na detecção de microssatélites (*ver*) utilizando *primers* (*ver*) específicos e a PCR (*ver*). Também conhecido como marcador microssatélite.

STMS: vem do inglês *Sequence Tagged Microsatellites*. É um tipo de marcador molecular do DNA baseado na detecção de microssatélites (*ver*), sinônimo de SSR (*ver*).

T

Taxon: termo, cujo plural é *taxa* em latim ou táxons, aportuguesado, que significa uma unidade taxonômica associada a um sistema de classificação.

Taxonomia: estudo da classificação dos seres em categorias de várias ordens, baseado em semelhanças e diferenças entre eles, com a descrição e denominação dessas categorias.

Tecnologia do DNA recombinante: conjunto de técnicas que visam à obtenção de moléculas de DNA resultantes de manipulação in vitro. Essas técnicas são muito utilizadas na engenharia genética (*ver*).

Teleomorfo: termo utilizado para descrever o estágio sexual de um fungo. Modernamente, é também aceito o termo meiospórico.

Termófilos: Microrganismos que requerem, ou que se desenvolvem melhor, a temperaturas de 50°C a 60 °C. Muitas bactérias termófilas toleram temperaturas acima de 100 °C. A faixa de temperatura na qual um organismo se desenvolve é amplamente determinada pelas temperaturas nas quais suas enzimas atuam.

TGGE: vem do inglês *Thermal Gradient Gel Electrophoresis*. É uma técnica de separação de marcadores genético moleculares do DNA amplificados via PCR (*ver*) por meio de eletroforese em géis sob temperaturas desnaturantes.

Transposons: também chamados elementos transponíveis. São unidades genéticas ou segmentos de DNA capazes de translocar e se inserir em uma nova posição do genoma.

Tratado de Budapeste: acordo adotado em 1977 e com vigência a partir de 1980, em que todos os países signatários da Convenção de Paris realizam um depósito único em uma autoridade internacional de depósito, sendo suficiente perante todos os demais órgãos oficiais de patentes dos países signatários do Tratado.

Tratos culturais: conjunto de atividades necessárias à condução das culturas agrícolas como podas, desbrotas, capinas, irrigação, adubação de cobertura, tratamentos fitossanitários, etc.

Tubos germinativos: estruturas filamentosas dos fungos que brotam a partir da parede dos esporos e se desenvolvem em hifas.

V

Variabilidade: estado de ser variável, em qualquer categoria considerada. Em genética há uma tendência de associar variabilidade com o nível micro, como, por exemplo, no caso da variabilidade genética de organismos.

Variabilidade genética: variação hereditária devida à constituição genética dos indivíduos de uma população, sendo responsável por parte das suas diferenças fenotípicas. A variabilidade causada pelo ambiente manifesta-se geralmente como plasticidade (*ver*), mas toda plasticidade fenotípica resulta de processos moleculares acontecendo no núcleo e citoplasma e esta é, portanto, genotipicamente controlada. Normalmente, a variabilidade genética é considerada como a amplitude da variação genética existente em uma determinada espécie, coleção de germoplasma ou população.

Vetor: molécula de DNA derivada normalmente de um plasmídeo (*ver*) ou bacteriófago (*ver*), na qual fragmentos de DNA podem ser inseridos ou clonados. Essa molécula autorreplica e serve de veículo para replicação de outras moléculas de DNA.

Vetores de transferência: molécula de DNA derivada de um plasmídeo ou bacteriófago no qual fragmentos de DNA podem ser inseridos ou clonados.

Virion: unidade infecciosa de um vírus. Partícula viral consistindo de pelo menos um nucleocapsídeo e um envelope proteico associado.

Virulência: atributo do patógeno que lhe permite diferenciação em grau de patogenicidade, quando comparado com outro da mesma espécie.

VNTR: vem do inglês *Variable Number of Tandem Repeats*, ou seja, número variável de repetições em tandem (lado a lado). É um tipo de marcador genético molecular do DNA baseado na detecção de minissatélites (*ver*).