

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Coleta de Germoplasma

Foto: Bruno M. T. Walter



Foto: Bruno M. T. Walter

Foto: Clarissa G. Fontes



Foto: Glócimar P. Silva

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

Documentos 309

Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Coleta de Germoplasma

Bruno Machado Teles Walter

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica - PqEB – Av. W5 Norte (final)

Caixa Postal: 02372 - Brasília, DF - Brasil – CEP: 70770-917

Fone: (61) 3448-4700

Fax: (61) 3340-3624

Home Page: <http://www.cenargen.embrapa.br>

E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Lucio Brunale*

Secretária-Executiva: *Lígia Sardinha Fortes*

Membros: *Diva Maria de Alencar Dusi*

Jonny Everson Scherwinski Pereira

José Roberto de Alencar Moreira

Regina Maria Dechechi G. Carneiro

Samuel Rezende Paiva

Suplentes: *João Batista Tavares da Silva*

Margot Alves Nunes Dode

Revisor técnico: Alessandra Pereira Fávero

Supervisor editorial: Lígia Sardinha Fortes

Revisor de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica: Lígia Sardinha Fortes

Editoração eletrônica: José Cesamildo Cruz Magalhães

Fotos da capa: Bruno M. T. Walter, Clarissa G. Fontes e Glocimar Pereira da Silva

1ª edição (*on line*)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n 9.610).

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

Walter, Bruno Machado Teles.

Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: Coleta de germoplasma. / Bruno Machado Teles Walter. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

15 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 309)

Revisão técnica: Alessandra Pereira Fávero.

1. Recursos Genéticos Vegetal – Conservação. 2. Germoplasma - coleta. I. Título. II. Série.

581.15 - CDD

© Embrapa 2010

Autores

Bruno Machado Teles Walter

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

bwalter@cenargen.embrapa.br

Apresentação

Desde o início da década de 1970, há uma crescente conscientização mundial sobre a necessidade de preservação dos recursos genéticos, que são essenciais para o atendimento das demandas de variabilidade genética dos programas de melhoramento, principalmente aqueles voltados para alimentação.

No Brasil, esta necessidade é especialmente importante, uma vez que a maioria dos cultivos que compõem a base alimentar do país é de origem exótica. Observa-se, por exemplo, que cerca de 95% dos acessos de cereais conservados em coleções do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA) são de espécies exóticas. Portanto, a manutenção e o enriquecimento contínuo da variabilidade genética dessas coleções são prioritários e estratégicos, considerando, ainda, as atuais restrições internacionais ao intercâmbio de germoplasma.

Na década de 1970, a *Food and Agriculture Organization* (FAO), órgão das Nações Unidas, estimulou o estabelecimento de uma rede mundial de Centros para a conservação de recursos genéticos situados em regiões consideradas de alta variabilidade genética. Em 1974, o *Consultative Group for International Agricultural Research* (CGIAR) criou o *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR), hoje transformado no *Bioversity International*. No mesmo ano, a Embrapa reconheceu a importância estratégica dos recursos genéticos com a criação do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN), que mais recentemente adotou a assinatura-síntese Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

A criação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a consolidação do SNPA estabeleceram ambiente propício para a formatação da Rede Nacional de Recursos Genéticos. A partir de então, paulatinamente, coleções de germoplasma foram estruturadas em diferentes Unidades Descentralizadas, predominantemente na área vegetal.

Em 1993, por intermédio de deliberação da Diretoria Executiva, a Embrapa formalizou, como ferramenta de gestão das coleções, o Sistema de Curadorias de Germoplasma e definiu os papéis e as responsabilidades para os diversos atores envolvidos nesse Sistema, tais como: curadores de coleções de germoplasma, Chefes de Unidades Descentralizadas que abrigavam as coleções e a Supervisão de Curadorias. Os projetos em rede foram definidos como figuras programática e operacional, possibilitando o custeio de atividades de coleta, intercâmbio, quarentena, caracterização, avaliação, documentação, conservação e utilização de germoplasma, além da manutenção das coleções. De 1993 até a presente data, muitas coleções de germoplasma foram estabelecidas e, atualmente, o Sistema de Curadorias da Embrapa reúne 209 coleções, incluindo Bancos Ativos de Germoplasma Vegetal (BAGs), Núcleos de Conservação Animal, Coleções Biológicas de Micro-

organismos e Coleções de Referência, as quais abrangem espécies nativas e exóticas. Nas demais Instituições do SNPA, estima-se que são mantidos pelo menos outros 243 Bancos Ativos de Germoplasma Vegetal.

Como duplicata de segurança dos acessos mantidos nos BAGs, a Embrapa Cenargen abriga a Coleção de Base (COLBASE) de germoplasma vegetal, projetada para conservar sementes à temperatura de -20°C por longo período de tempo.

Como consequência desses 30 anos de atividades relacionadas ao manejo dos recursos genéticos, os curadores adquiriram uma bagagem de conhecimentos práticos na área, conhecimentos estes que foram, em parte, sistematizados e disponibilizados para a sociedade por intermédio da presente obra: "Manual de Curadores de Germoplasma".

Esperamos que esta publicação em série torne-se um guia para os curadores de germoplasma no Brasil e no exterior, e que contribua efetivamente para o aprimoramento da gestão dos recursos genéticos deste país.

Mauro Carneiro

Chefe Geral

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Sumário

Importância e definição	08
Como realizar uma expedição de coleta	09
Como documentar o material e quem identifica as plantas	10
Quanto material deve-se coletar e quantas sementes por planta	12
O que fazer para realizar uma coleta e como proceder ao seu final	14
Referências	15

Coleta de Germoplasma

Bruno Machado Teles Walter

Importância e definição

Coleta de germoplasma ou, resumidamente, “coleta” é o conjunto de atividades que visam à obtenção de unidades físicas vivas que contenham a composição genética de um organismo, ou amostra populacional de determinada espécie, com a habilidade de se reproduzir (WALTER *et al.*, 2005). Dependendo do contexto, o termo também pode ser aplicado à missão ou à expedição de campo que busca obter essas unidades (Figura 1).

Foto: Bruno M. T. Walter



Figura 1. Veículo utilizado em missões de coleta de germoplasma.

Esta definição de coleta remete o conceito para algum tipo de unidade física palpável, que seja representativa da população ou da espécie-alvo da ação. Sendo assim, dependendo da espécie, o germoplasma pode ser coletado, manipulado e conservado na forma de sementes, mudas, estacas ou por meio de cultura de tecidos (Figura 2).

Fotos: Glocimar P. Silva



Figura 2. Tipo mais comum de germoplasma alvo de coleta: sementes.

Coleta de germoplasma está intimamente vinculada aos processos de conservação *ex situ*, sendo uma das maneiras básicas de se enriquecer as coleções. Juntamente com a introdução e o intercâmbio, forma os pilares tradicionais do enriquecimento em recursos genéticos. Portanto, um banco ativo de germoplasma (BAG) é um usuário natural que demanda ações de coleta, objetivando o enriquecimento das coleções mantidas *ex situ*.

Como realizar uma expedição de coleta

Cada espécie (ou produto) requer determinadas ações e procedimentos na coleta que são particulares, quer sejam eles de planejamento, de estratégias ou de materiais e equipamentos necessários nas atividades de campo. Em outras palavras, as estratégias e os procedimentos de coleta variam de espécie para espécie, de produto para produto. Em consequência, não há como indicar um procedimento único, universal, aplicável a qualquer situação que necessite de coleta. Exemplificando, o que se demanda na coleta de espécies florestais é muito diferente das demandas para espécies herbáceas, tendo em vista que a biologia das plantas é diferente.

Enquanto as primeiras são plantas perenes, altas, com ciclos reprodutivos que podem ser longos, as espécies herbáceas geralmente são anuais, baixas, com períodos de reprodução mais curtos. Os equipamentos necessários para a coleta de germoplasma de amendoim, uma planta cujo propágulo (ou unidade visada) se encontra enterrada no solo, são diferentes daqueles necessários à coleta de aroeira, uma árvore cujas sementes se encontram em frutos dispersos pelo vento.

Contudo, é possível agrupar artificialmente as espécies (produtos) em conjuntos com características similares, cujos princípios básicos de coleta seguem alguns padrões. Os exemplos anteriores, “florestais perenes” e “herbáceas anuais”, são dois desses grupos. Outros incluem plantas cultivadas ou parentes silvestres; germoplasma nativo ou exótico; plantas de propagação vegetativa ou com reprodução sexuada (sementes); dentre outros. Grupos tradicionalmente utilizados para ligar produtos baseiam-se na sua utilização principal e reúnem as espécies sob classes como alimentícias, corantes, condimentares, florestais, forrageiras (gramíneas ou leguminosas), fruteiras, laticíferas, medicinais, oleaginosas, ornamentais, palmeiras (usos múltiplos), raízes e tubérculos, e até mesmo classes heterogêneas como plantas destinadas à recuperação de áreas degradadas.

É fundamental que o coletor esteja no campo exatamente na época de produção do germoplasma a ser coletado. Portanto, se o objetivo é coletar sementes de aroeira, deve-se estar no campo na época de plena frutificação da espécie, na região escolhida para a

coleta. Em um país continental como o Brasil, dentre outros fatores relacionados à distribuição natural de uma espécie, a latitude é um parâmetro que afeta a fenologia e, portanto, deve ser considerada no planejamento de uma expedição. Sendo assim, além das características intrínsecas da espécie visada, a região em que as plantas ocorrem definirá uma série de questões logísticas.

Para se acessar plantas nos principais biomas brasileiros, como o Cerrado, a Caatinga ou os Pampas, uma caminhonete com tração nas quatro rodas geralmente é o veículo mais adequado (Figura 1). Já na Amazônia, para a maioria dos produtos nativos, é imprescindível que se conte com barcos como meio de transporte.

Em síntese, para realizar uma missão de coleta, é importante considerar questões relacionadas à espécie-alvo, como sua distribuição e fenologia; ao transporte e aos meios de acesso às populações no campo; à quantidade de germoplasma necessário; aos equipamentos de coleta e conservação; à legislação; e onde, como e quem (equipe) serão os responsáveis pela coleta e também pela conservação.

Há na literatura numerosas fontes bibliográficas que informam sobre estratégias, materiais e equipamentos necessários para a coleta dos diferentes grupos de espécies. Para a coleta de germoplasma, recomenda-se a consulta dos livros de Guarino *et al.* (1995) e Walter e Cavalcanti (2005). Para materiais de herbário, Mori *et al.* (1989) e Fidalgo e Bononi (1989) são fontes básicas.

Como documentar o material e quem identifica as plantas

Todo material a ser incorporado aos BAGs deve ser adequadamente identificado e documentado. Para a correta identificação, dispor de um *voucher* (amostra testemunha) de herbário (Figura 3) é sempre recomendado em coletas de germoplasma, e isto deveria ser regra; embora ainda não seja, este é um quadro que vem mudando ultimamente.

Foto: Bruno M. T. Walter



Figura 3. Coleta de espécime botânico (*voucher*) para herbário.

O *voucher* é uma amostra da espécie-alvo que deve conter um ramo com material reprodutivo, preferencialmente flores (ou idealmente flores e frutos), que deve ser prensado e desidratado em um processo denominado herborização (Figuras 3 e 4). Pelo menos quatro amostras (duplicatas) podem ser feitas por número de coleta (ou por *voucher*), sendo que uma delas deve ser destinada ao especialista na taxonomia do grupo botânico. Detalhes deste tema são encontrados em Mori *et al.* (1989), Fidalgo e Bononi (1989) e Walter e Cavalcanti (2005).

Preferencialmente, a identificação taxonômica deve ser feita por especialistas ou, ao menos, por botânicos treinados, tendo o suporte técnico de um herbário (Figura 4). Entretanto, no campo, mateiros ou técnicos de campo geralmente fornecem informações de identificação muito úteis. Para recursos genéticos, o Herbário CEN (Figura 5) é referência em amostras de plantas de interesse econômico e pode ser indicado para o depósito de duplicatas associadas às coletas de germoplasma.

Fotos: Bruno M. T. Walter



Figura 4. Atividades de identificação de espécimes botânicos (*vouchers*) em herbário.

Tanto para os *vouchers* de herbário quanto para os acessos (ou amostras da população), as primeiras informações que podem ser obtidas sobre qualquer material a ser incorporado a uma coleção são (ou deveriam ser) obtidas na coleta. Com base nessas informações é que o germoplasma passa a agregar valor.

Tendo por referência a caderneta de campo utilizada pelo Cenargen desde os anos 1970, a seguir são indicadas e brevemente comentadas algumas dessas informações (WALTER e CAVALCANTI, 2005a). Vale destacar que as informações de campo podem ser anotadas em qualquer caderno ou caderneta de campo específica; entretanto, a partir da coleta, tais informações passarão a ser uma espécie de “certidão de nascimento” daquele acesso.



Figura 5. Prédio da Botânica e Ecologia, onde fica o Herbário CEN.

Uma caderneta de campo não é algo pessoal, e sim institucional; nela o coletor deve anotar:

- nome do coletor (ou coletores): registrar os nomes dos coletores participantes. Ao coletor principal (o primeiro nome registrado) é que a coleção (coleta) ficará associada;
- número do coletor: número sequencial crescente que, para cada coletor, inicia-se em 1 e segue infinitamente para qualquer acesso ou material de herbário que venha a ser coletado por ele, em qualquer local, para quaisquer materiais, estando em qualquer instituição;
- data da coleta: anotar dia, mês e ano da coleta;
- país, região, estado, território, município: sempre fazer estes registros;
- latitude, longitude, altitude: registrar as coordenadas geográficas e a altitude local;
- local da coleta: com riqueza de detalhes, anotar o local da coleta, possibilitando que outros coletores possam realizar novas coleções na mesma área;
- ambiente geral: descrever o ambiente (formação vegetal) de onde o espécime foi obtido;
- substrato geral: indicar o substrato ou o tipo de solo;
- relevo: registrar indicações sobre a topografia do terreno (plano, acidentado, etc.);
- família: anotar a família botânica do espécime coletado;
- nome científico: estando no campo, os coletores (se treinados) já podem determinar o gênero ou a família do espécime e, se possível, a sua espécie;
- nome comum local: registrar os nomes populares do espécime, como são conhecidos no local ou na região de coleta, a partir de informações obtidas com pessoas da comunidade. Não registrar nomes conhecidos em outras regiões;
- nome do determinador e data: registrar o nome da pessoa que identificou o espécime e a data da identificação. Nos materiais de herbário, por convenção, a identificação mais recente do espécime é a que deve ser considerada como sendo a correta;
- interesse econômico: anotar o uso do espécime (florestal, medicinal, ornamental, etc.);
- material coletado: anotar se foram coletadas sementes, mudas, estacas, exsiccatas, amostras de folhas, etc;
- hábito de crescimento: registrar o hábito do espécime ou das plantas do acesso (árvore, arvoretta, arbusto, subarbusto, erva, liana, epífita, etc.);
- frequência relativa: registrar a abundância da espécie na área ou local;
- cor da flor: registrar a coloração principal da flor e quaisquer outras características reprodutivas da planta que possam ser perdidas no processo de herborização;
- cor do fruto: registrar a coloração do fruto e indicar seu grau de maturação; e
- observações: anotar outras informações que se julgue importantes e necessárias sobre a coleta.

Produtos diferentes podem demandar mais informações que as acima sugeridas. Porém, geralmente são estes os primeiros e principais registros feitos sobre materiais oriundos de coleta. Aqui começam a ser registrados os dados de passaporte.

Quanto material deve-se coletar e quantas sementes por planta

Este é um tema controverso e que possui vasta literatura. De maneira geral, a resposta tem sido dada para espécies cultivadas ou para espécies silvestres. São estes os dois grupos principais. Para ambos, deve-se definir qual (quais) espécie será coletada, priorizando aquelas que possam ser utilizadas mais facilmente (as pertencentes ao conjunto gênico primário das plantas cultivadas) e, quando necessário, aquelas que estejam ameaçadas. É fundamental a definição das áreas em que se realizará a coleta, com base na distribuição conhecida da espécie. Se a área de distribuição for grande, deve-se priorizar locais onde mais espécies (afins e parentes silvestres) possam ser encontradas, se possível buscando os centros de diversidade (ou, teoricamente, também os centros de origem).

Como estratégia geral, para espécies cultivadas sobre as quais haja pouca ou nenhuma informação disponível a respeito da estrutura genética da espécie-alvo, pode-se adotar as seguintes recomendações gerais (VENCOVSKY, 1986; LLERAS, 1988; BROWN e MARSHALL, 1995):

- amostrar cerca de 50 populações por área ecogeográfica, ou durante uma expedição;
- amostrar cerca de 50 indivíduos em cada população;
- amostrar os indivíduos aleatoriamente em cada sítio, com amostras separadas para microambientes distintos, se o sítio for heterogêneo;
- amostrar sementes, ou materiais vegetativos, suficientes por planta, a fim de assegurar a representação de cada planta original em possíveis duplicatas;
- para conservar a variabilidade 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;
- para conservar a variabilidade de espécies autógamas, coletar sementes extensivamente e de forma casualizada em cada população, com amostras grandes de cada matriz, do maior número de populações; e
- para ganhar tempo em programas de melhoramento, coletar, se for viável, material vegetativo de matrizes consideradas de elite, procurando representá-las dentro da amostra.

Para as espécies silvestres, pode-se considerar ainda as seguintes recomendações (CHAPMAN, 1989; WALTER e CAVALCANTI, 2005):

- coletar nos mais diversos sítios possíveis, tanto em termos geográficos quanto ecológicos;
- enfatizar o número de sítios, em vez do número de indivíduos por sítio;
- amostrar os indivíduos aleatoriamente em cada sítio, com amostras separadas por microambientes distintos, se os sítios forem heterogêneos; e

- para conservar a diversidade genética, coletar o germoplasma extensivamente em cada população definida, com amostras grandes de cada matriz, do maior número de matrizes, no maior número de populações.

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

O que fazer para realizar uma coleta e como proceder ao seu final

Teoricamente, a coleta de germoplasma pode ser subdividida em três etapas sequenciais e complementares: pré-coleta, coleta no campo e pós-coleta (WALTER e CAVALCANTI, 2005a). Pré-coleta envolve as atividades e o planejamento técnico e logístico conduzido antes da realização da expedição. Nela é feito o plano geral, consulta-se a legislação pertinente, formam-se as equipes, verificam-se caminhos, o itinerário e o transporte, e dimensionam-se os materiais e equipamentos de campo. No campo, coloca-se em prática o planejamento anterior.

Terminada a expedição, inicia-se a pós-coleta, que são as atividades técnicas e práticas conduzidas após a expedição. Entre as atividades mais relevantes, está a triagem e o beneficiamento dos acessos de germoplasma-semente e eventual plantio de sementes e mudas; a distribuição ou o encaminhamento de amostras do germoplasma para conservação (duplicatas, se for o caso e, preferencialmente, envio de amostras para conservação a longo prazo na Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Cenargen); a complementação dos dados da caderneta de campo; e início da digitação dos dados e organização do material fotográfico. Quanto ao material de herbário, deve-se finalizar a herborização e dar início à separação de duplicatas e à montagem das exsiccatas para incorporação em herbário. Para registro, recomenda-se fortemente que se prepare um relatório técnico sobre a expedição.

Atualmente, no sistema Embrapa, os produtos mais tradicionais vêm sendo coletados dentro de projetos próprios coordenados e liderados nas unidades descentralizadas. Para recursos genéticos ausentes desses projetos, o Cenargen (Figura 5) tem procurado cobrir lacunas, buscando coletá-los e encaminhá-los para conservação a longo prazo, especialmente aqueles que se encontram em áreas sob impacto antrópico, com ênfase para produtos de uso ainda potencial.

Referências

- 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, UK: Cab International, 1995. p. 75-91.
- 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.
- FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989. 62 p. (Série documentos).
- GUARINO, L.; RAO, V. R.; REID, R. (Ed.). **Collecting plant genetic diversity: technical guidelines**. Wallingford Oxon, UK: Cab International, 1995. 748p.
- LLERAS, E. Coleta de recursos genéticos vegetais. In: ARAUJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). **Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal, FCAV, 1988. p. 23-42.
- MORI, S. A.; SILVA, L. A. M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. **Manual de manejo do herbário fanerogâmico**. 2. ed. Ilhéus, BA: Centro de Pesquisas do Cacau (CEPLAC), 1989. 104 p.
- VENCOVSKI, 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).
- WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 778 p.
- WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. A prática da coleta de germoplasma. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005a. p. 179-215.
- WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; BIANCHETTI, L. B.; VALLS, J. F. M. 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, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 26-55.



***Recursos Genéticos e
Biotecnologia***