

REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural

FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

SUPLEMENTO A: Colheita de espécimes de referência e Amostras para Análise de ADN nas PAPs



SUPLEMENTO A: Colheita de espécimes de referência e Amostras para Análise de ADN nas PAPs

Quando se realizam colheitas de espécimes de plantas deve-se seleccionar o material vegetativo que tenha as caraterísticas que irão permitir a sua identificação. Este processo compreende a colheita, a prensagem e secagem do material, e a descrição das características da planta realizadas no momento da colheita.

Deve-se colher espécimes férteis com pelo menos um elemento botânico presente: flores e frutos. Em casos de sua ausência deverão ser colhidos materiais inférteis como por exemplo, folhas, flores e frutos secos, havendo, contudo, a necessidade de no futuro se fazer a colheita do material fértil respectivo.

De forma a obter espécimes de boa qualidade, estas devem ser acompanhadas com informação das características da planta, a etiqueta respectiva, e prensadas de imediato. Deve-se colher material suficiente para fazer 3 cópias separadas.

1. Etapas na colheita de espécimes de plantas

<u>Etapa 1</u>: Escolher a melhor parte da planta a colher de modo a que retenha as características principais: Arranjo dos ramos, inserção das folhas nos ramos, presença de estípulas, flores e frutos (veja Figuras 1 e 2).

Os espécimes colhidos devem ter material fértil (flores, frutos ou ambos), e as partes vegetativas. As flores colhidas deverão estar abertas. Somente colher material estéril se a planta não tiver elementos botânicos.

Tirar fotografias da planta, mostrando as suas características principais.

<u>Etapa 2</u>: Use a tesoura de poda para cortar o ramo. Faça três espécimes (amostras) da mesma planta.

- Para árvores, arbustos e ervas grandes deve colher o material vegetativo de forma a mostrar o padrão de arranjo dos ramos como as folhas e os outros elementos estão inseridos no ramo.
- Para gramíneas e ervas pequenas colha a planta inteira incluindo as raízes (veja Figura 1.)

Existem plantas que necessitam de técnicas especiais de preparação da amostra e prensagem, como o caso de plantas suculentas (Bromélias, Cactos e Orquídeas), Bambus, Palmeiras e Fetos. Os exemplos para estes casos poderão ser consultados no Manual elaborado pelo Projecto Sabonet (Victor *et al.*, 2004).

<u>Etapa 3</u>: Cada exemplar deverá ter a sua respectiva etiqueta. Num dos versos da etiqueta deve registar: o nome/número do colector, número de colheita do espécime, código da PAP, e código da planta. No outro verso, registe a data e o nome local da espécie, caso este seja conhecido. Figura 1. Espécime colhida no campo

Etapa 4: Registe a informação do formulário de colheita no bloco de notas de campo (Anexo 1).



Figura 1. Espécime colhida no campo (fotos de Sousa, Camila)



Figura 2. Espécime já no herbário com informação (Foto de Sousa, Camila)

Todas as notas relacionadas com o espécime devem ser registadas no momento da colheita e de preparação do espécime no campo, e não mais tarde.

Ela deverá conter: os detalhes do local de colheita e características da espécie, o nome local da espécie e a respectiva língua (shangana, macua, ronga, sena, etc). O nome científico da espécie não necessita de ser conhecido aquando da colheita, podendo ser identificado mais tarde no herbário por especialistas.

Deverá também registar: localização (Coordenadas Geográficas do local utilizando o GPS), tipo de solo, vegetação, espécies mais frequentes do local e características da planta que podem ser perdidas depois de secas e prensadas (ex. textura das folhas, cheiro, se tem seiva e cor da seiva, cor da flor, e do fruto, características da casca, etc.). Use o formulário de colheita de espécime que está no Anexo 1, e a descrição das características da planta de acordo com o Anexo 3, poderá também utilizar "The Kew Plant Glossary an illustrated dictionary of plant terms".

<u>Etapa 5</u>: O espécime deverá ser imediatamente prensado. Para que o material ilustre o maior número de detalhes visíveis, deve-se retirar os ramos e folhas desnecessárias, devem ser espalhadas de modo a não tocarem umas nas outras, inclusive ter algumas folhas colocadas ao reverso. Este material deve ser colocado entre folhas de jornal ou qualquer outro papel absorvente (*blotter paper*). Entre um conjunto de cerca de 10 exemplares de espécimes coloque um cartão ou uma folha de alumínio ondulada (*corrugated*). Aperte bem a prensa de campo com as cordas.

2. Como Secar Espécimes no Campo

É essencial secar os espécimes rapidamente para prevenir o ataque de fungos. Para os espécimes secarem no campo deve-se colocar as prensas ao sol durante o dia (Figura 3) ou utilizar um secador de campo (Figura 4).

Os papeis de jornal ou absorventes que estão entre os espécimes devem ser trocados diariamente. As folhas de jornal devem ser secas ao sol para posterior utilização.

Note bem que a folha de jornal que envolve o espécime nunca deve ser mudada. A primeira vez que se procede à troca de jornais, deve-se ajustar e rearranjar as partes do espécime enquanto estiverem húmidas e verificar se há algum ataque de insectos. Este procedimento compreende por exemplo, cortar e/ou arranjar as folhas para adaptar ao tamanho do papel, desdobrar as folhas que estejam dobradas, dispor algumas folhas com as faces opostas. Se os frutos estão a desprender-se dos ramos, deve-se colocá-los em envelopes de papel corretamente identificados. Neste processo deve-se sempre tomar o cuidado para não perder as etiquetas e informação do espécime.

Para facilitar o transporte do material colhido e diminuir o volume, à medida que os espécimes secam, estes poderão ser retirados da prensa e colocados em sacos de plástico grandes fechados, e amarrados. Não esquecer de manter a folha de jornal que envolve o espécime e a respectiva etiqueta.



Figura 3 Secagem de espécimes no campo ao sol (Foto de Sousa, Camila)



Figura 4 Secador de campo (Foto de Matimele, Hermenegildo)

3. Colheita de amostras de ADN

Para análise de ADN terá que se remover algumas folhas das plantas onde foram colhidos os espécimes. As folhas colhidas deverão ser as mais jovens, livres de doenças, insectos e contaminação de fungos. Estas amostras devem ser postas numa saqueta de "chá" e seladas. De seguida deve-se pôr uma etiqueta adesiva, registando os dados correspondentes ao espécime da planta colhida (Etapa 3).

Põe-se as saquetas de "chá" num saco plástico/caixa plástica hermeticamente selável com gel sílica no seu interior. Este material deve ser guardado num local que não receba luz directa.

Durante o tempo que se estiver no campo deve-se verificar se há necessidade para se mudar o gel sílica: quando a cor dos grãos muda, é um indicativo de que a sua capacidade de absorção de humidade foi atingida. Não se deve deitar fora os grãos de sílica pois estes podem ser reusados depois de secos num forno a 100°C.

As amostras de ADN devem ser entregues ao herbário com os espécimes respectivos, e daí serem enviados para os laboratórios de análises de ADN.

4. Equipamento e materiais para colheita de espécimes e amostras de DNA

1. GPS	17. Envelopes e/ou sacos de papel de vários tamanhos
1. 01 6	17. Envelopes e/ou sucos de puper de varios tumannos

3. Prensas e cordas 19. Etiquetas

4. Tesoura de poda de cabo curto 20. Etiquetas adesivas

5. Tesoura de cabo longo 21. Saquetas de "chá" para ADN

6. Lupa de bolso 22. Sacos de plásticos hermeticamente seláveis para ADN

7. Manual de colheita de espécimes 23. Gel de sílica

8. Bloco do colector e de notas 24. Álcool (70%)

9. Pá pequena 25. Frascos

10. jornais 26. Petróleo

11. Papel absorvente 27. Pincel

12. Folhas de alumínio ondulado 28. Formulários/fichas de colheita de espécime

13. Papel vegetal 29. Caixas plásticas hermeticamente seláveis para ADN

14. secador de campo do tipo *tupper ware*

15. garrafas gás (2)

16. fogão de campo a gás de 2 bocas

Anexo 1

Formulário de registo de informação dos espécimens

Dados de Campo						
Colector:		N°		Data:	/	/
Nome Provisório:	Nome(s) local:					
Lingua :						
Coordenadas geográficas:_	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		S;	°		E
Altitude:metros ;	; WAY	POINT n) 			
Região de Colheita						
Província:	Distrito:		Local	idade:		_
Vila:						
Local de colheita:						

Habitat

Tipo de vegetação onde foi colhido o espécime: Assinalar o(s) tipo(s)

Estrutura da vegetação (de White 1983)			
1. Floresta	Povoamentos contínuos de árvores de 10 m de altura; copas sobrepostas. Ausência de capim, ou capim muito esparso		
2. Mata	Povoamentos de árvores abertos de pelo menos 8 m de altura, cobertura de copa >40%. Com estrato herbáceo e presença de capim.		
3a. Matagal	Povoamentos abertos de árvores/arbustos de 2–7 m altura, cobertura de copa de 40% ou mais		
3b. Brenha	Povoamento fechado de árvores/arbustos de 2–7 m altura e trepadeiras. Difícil de penetrar.		
4. Vegetação	Povoamentos de arbustos abertos ou fechados até 2m de altura		

Suplemento A de colheita de espécimes de plantas nas PAPs

arbustiva	
5. Pradaria	Área coberta de capins/ervas; plantas lenhosas com menos de 10% de cobertura
6. Pradaria arbustiva	Área coberta de capins/ervas; plantas lenhosas cobrindo 10-40%
8. Vegetação aquática	Vegetação herbácea dos pântanos de água doce e aquática
10. Vegetação distinta e restrita	Formações de vegetação de distribuição limitada com estrutura distinta, ex. Bamboo, sobcoral
11. Antropogénica	Ex. Áreas cultivadas, pousios recentes, pousios antigos

Tipo de solo:				
Características da planta (Veja Anexo 3):				
Forma de vida: (árvore, arbusto, erva, capim, epifita, trepadeira, suculenta, lichens, etc.)				
Altura da planta:Metros				
Casca, folhas, flores, frutos, sementes (cor, textura, odor)				
Seiva (presente? Cor, que tipo (leitosa, água, etc.))				
Outras Notas:				
Abundância da espécie no local: ocasional, frequente, abundante, muito abundante				
Fenologia e estado de maturação dos frutos: % de plantas a florir e/ou a frutificar				
Polinizadores: abelhas, borboletas, moscas, pássaros, morcegos, etc.				
Herbívoria: se é comida por algum animal selvagem				
Factores etnobotânicos: utilização, parte utilizada				
Foto n°(s):				

Anexo 2:

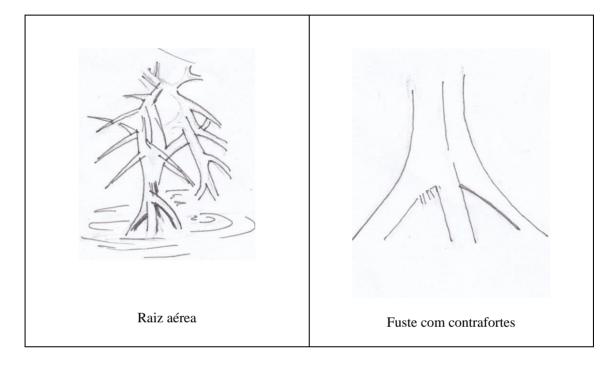
Ficha de informação dos espécimes de referência a serem entregues no herbário

Código da PAP	Código Planta	Data colheita	Colector ID	DNA	Nome no Campo	Forma de vida	características da espécie	Notas

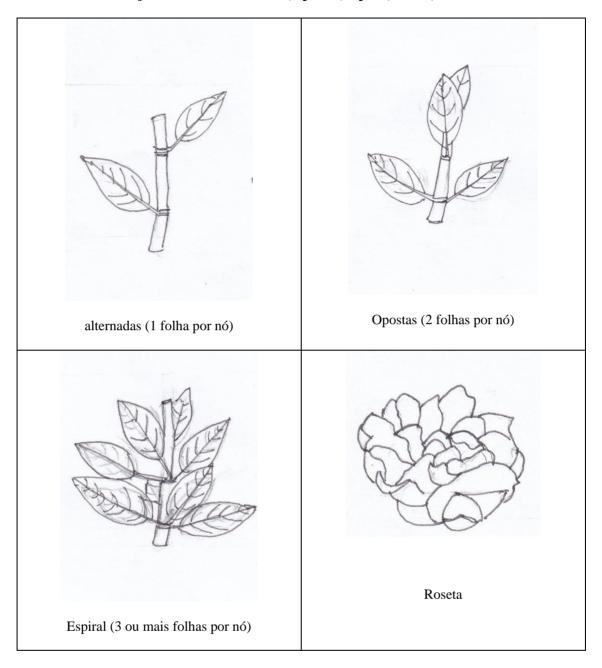
Anexo 3: Informação das características da planta a registar

Tipo de raiz: bolbo, tubérculos, rizomas, etc.

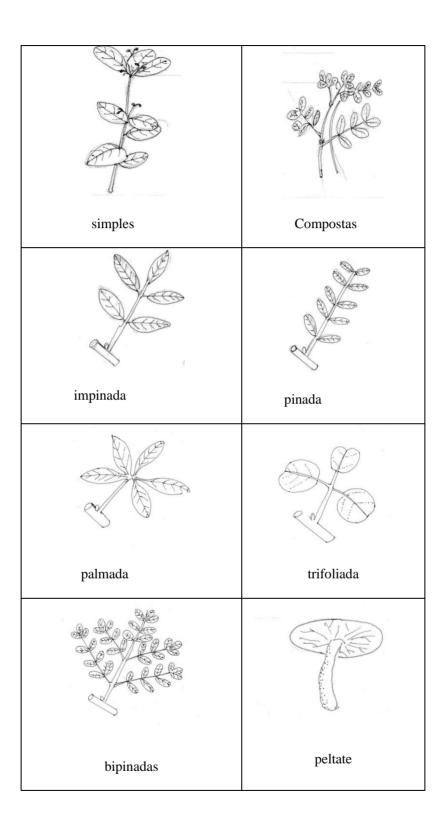
Outras características a observar: se tem raízes aéreas, contrafortes na base, casca



Arranjo das Folhas: alternadas, opostas, espiral, roseta, sem folhas

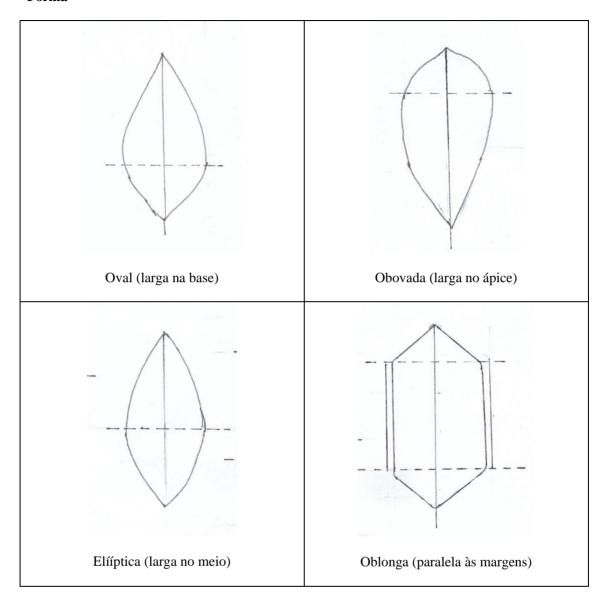


Tipo de folha

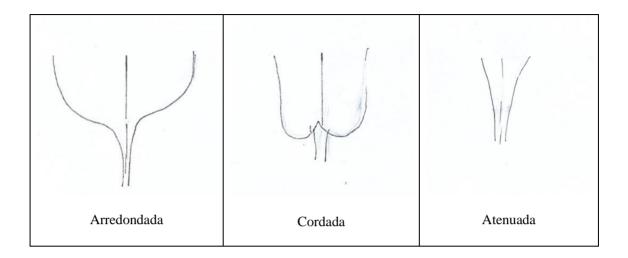


Forma da folha: formas, base, margem, ápice, simetria

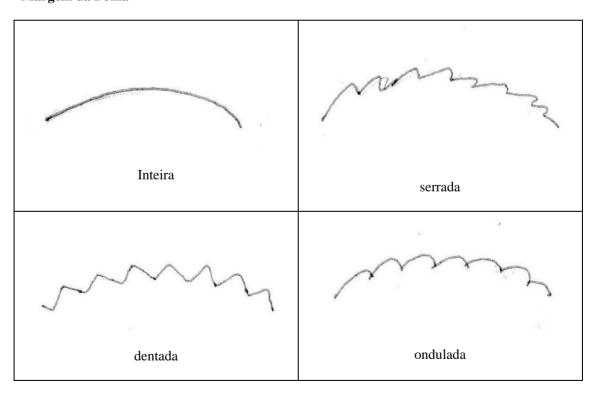
Forma



Base da folha

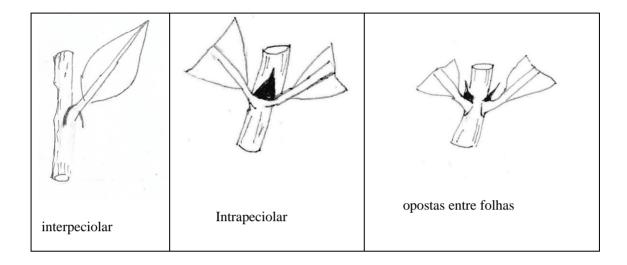


Margem da Folha



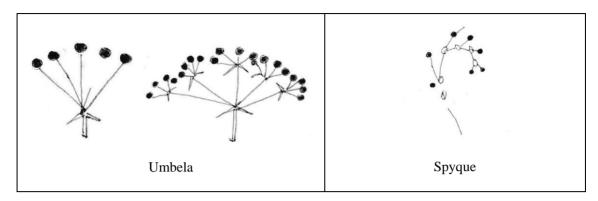
Textura e cor da folha: aveludada, com pêlos

Estipulas: Presentes ou ausentes, posição em relação ás folhas, Forma e cicatriz

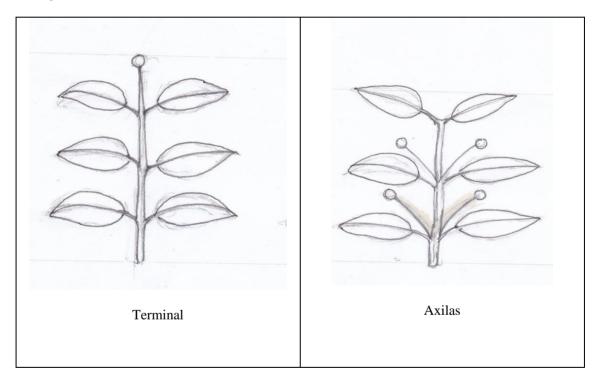


Inflorescência

Tipo:



Posição:



Flores

Detalhes do interior das flores podem ser muito importantes para a identificação da espécie, mas muitas vezes necessita-se da ajuda de microscópio. Caracteres importantes visíveis a olho nu são: número de pétalas e sépalas, cor

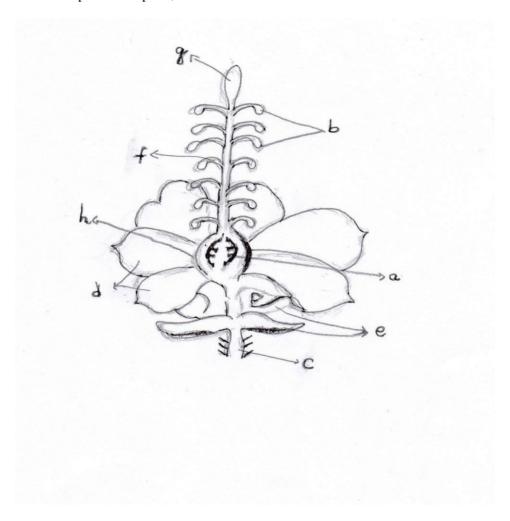


Diagrama mostrando as partes principais duma flor

 $a-\acute{o}vulos;\,b-estames;\,c-ped\'unculo;\,d-p\'etalas;\,e-s\'epalas;\,f-estilete;\,g-estigma;\,h-ov\'ario$

Frutos

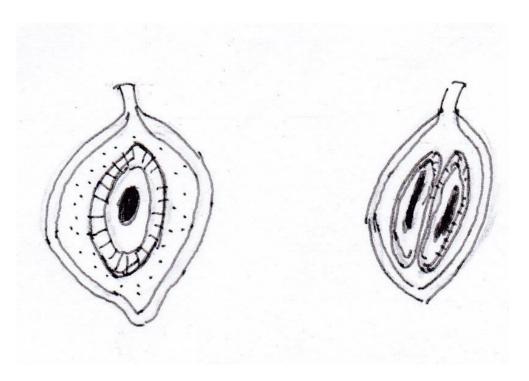
Os frutos quase todos têm uma estrutura geral que consiste numa camada exterior chamada pericarpo. O pericarpo por sua vez cobre a semente ou sementes. São classificados com base na natureza do pericarpo, em dois grupos: **suculentos /carnudos) e secos.**

Tipos de frutos:

frutos carnudos

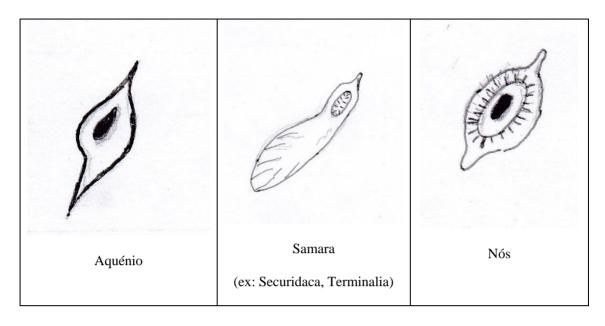


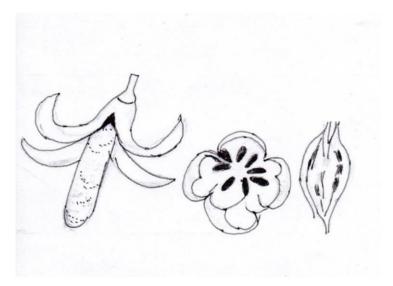
Baga (ex: canho, massala)



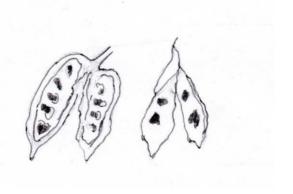
Drupa

Frutos secos





Capsula (ex: Khaya, Trichilia)



Vaga (ex: Acacia, Chanfuta, Messassa