

# Coleta de germoplasma de plantas medicinais

Ladislau Araújo Skorupa  
Roberto Fontes Vieira

## 1. Introdução

Com a crescente demanda por produtos naturais de origem mineral, animal ou vegetal, para uso na agricultura, na pecuária e na indústria, tem crescido também a pressão das atividades humanas sobre o meio ambiente, com impactos sobre os recursos naturais e alterações nos habitats. Produtos de origem vegetal têm sido amplamente utilizados nas indústrias de produção de alimentos, medicamentos, pesticidas, adoçantes, espessantes, óleos comestíveis, sabões, tintas, lubrificantes, entre outras. Dentro desse universo, a pesquisa de substâncias biologicamente ativas de uso na indústria médico-farmacêutica tem ocupado um espaço relevante em discussões nos meios científicos e políticos. O debate sobre o tema, tanto no âmbito nacional como no internacional, ganhou grande repercussão após a realização, em 1992, da *Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento*. O acesso aos recursos genéticos e a equitativa distribuição dos benefícios obtidos da sua utilização foram priorizados na *Convenção sobre a Diversidade Biológica* (Barbieri 1997). Ao lado das discussões atuais sobre os impactos na área médica de eventuais descobertas de novas drogas, também ficam patentes os fortes interesses econômicos envolvidos na questão.

As perspectivas otimistas de novas descobertas são acentuadas de um lado pelo desconhecimento generalizado de nossos recursos naturais e, de outro, pelo reconhecimento inequívoco das suas potencialidades. Inventários recentes indicam que cerca de 1,4 milhão de espécies de organismos vivos estão descritos na literatura científica, um número que pode ser significativamente maior (Erwin 1997); desse total, 230 mil compreendem as plantas vasculares e 16 mil são briófitas (Wilson 1997). Estima-se, ainda, que parte significativa dessa diversidade encontra-se nas regiões tropicais, principalmente nos países em desenvolvimento. Apenas com relação às angiospermas, cerca de 155 mil espécies ocorreriam nos trópicos, sendo que, destas, 90 mil na América Tropical (Prance 1977). Acredita-se que o Brasil abrigue aproximadamente 60 mil espécies distribuídas em seus grandes biomas: a Amazônia com 25 a 30 mil espécies (IUCN 1986), a Mata Atlântica e a Floresta Subtropical com cerca de 16 mil, o Cerrado com 7 mil (Alho & Martins 1995, Mendonça et al. 1998) e as demais espécies distribuídas na Caatinga, Pantanal e nos Campos Sulinos.

Parte significativa das drogas naturais ou semi-sintéticas utilizadas no mundo provém de plantas. No entanto, apenas 95 espécies fornecem as 121 substâncias ativas em uso corrente na medicina de origem vegetal (Soejarto & Farnsworth 1989). Assim, considerando apenas as Angiospermas, podemos supor que as chances de novas descobertas são elevadas. Até o início da década de 1980 era estimado que menos de 1% das espécies da flora brasileira eram conhecidas quanto ao seus constituintes químicos (Gottlieb & Mors 1980).

Apesar de todo esse potencial, o grande paradigma atual é a conciliação do atendimento às necessidades humanas associada ao uso sustentável dos recursos vegetais, sob o risco de seu desaparecimento, antes mesmo que possam ser investigados.

A chance desta tendência ser revertida será tanto maior quanto maior for o volume de conhecimentos gerados e agregados capazes de apoiar justificativas para a sua conservação. Essa tarefa contempla contribuições de um grande número de disciplinas, muitas delas dependentes do conhecimento da variabilidade genética presente nas populações de plantas. A coleta de germoplasma, visando a sua conservação *ex situ*, oferece apoio importante à química, à farmacologia, à fitotecnia e à biotecnologia, aplicadas às plantas medicinais (Hamann 1991, Vieira & Skorupa 1993, Skorupa & Assis 1998).

Neste capítulo é abordada a importância socioambiental da pesquisa de substâncias biologicamente ativas extraídas das plantas e as estratégias adotadas para a seleção de espécies para estudos químicos e farmacológicos, bem como para a sua incorporação em projetos de conservação de recursos genéticos, ressaltando as etapas críticas defrontadas pela pesquisa em projetos desta natureza.

## 2. Espécies vegetais como fontes de medicamentos

“Plantas medicinais” é uma expressão utilizada de forma genérica por todo o mundo para indicar plantas com propriedades terapêuticas. Dessa forma, estão incluídas nesse conjunto tanto espécies vegetais bem estudadas sob o ponto de vista químico e farmacológico, e que já se encontram em uso pela indústria farmacêutica, bem como um número relativamente grande de outras espécies que são utilizadas pelas comunidades tradicionais, seja como remédios caseiros ou como parte de rituais

ou cultos religiosos. A expressão “plantas medicinais” é aplicada nesse capítulo englobando ambos os grupos.

O uso de plantas medicinais para atendimento de necessidades básicas de medicamentos é um fato bem conhecido no Brasil. A Organização Mundial de Saúde estima que cerca de 80% da população, principalmente em países em desenvolvimento, recorre à este recurso (Farnsworth et al. 1985). O número de espécies de plantas medicinais utilizadas no mundo entre diversas culturas e nas mais diversas formas, está estimado em cerca de 20.000 (Livingston & Zamora 1983) ou entre 35.000 a 70.000 (Farnsworth & Soejarto 1991). Estima-se, ainda, que parte significativa dessas espécies seja largamente cultivada pelo mundo ou é de fácil acesso, por possuir uma ampla distribuição geográfica.

Apesar do grande número estimado de espécies vegetais existentes, apenas uma pequena parcela tem sido pesquisada cientificamente quanto ao seu potencial para produção de fármacos. Segundo o banco de dados de produtos naturais mantido pela Universidade de Illinois, em Chicago, das 3.500 novas estruturas químicas obtidas à partir de fontes naturais, registradas até 1985, 2.618 eram provenientes de plantas superiores, 512 de líquens, fungos filamentosos e bactérias, e o restante proveniente de fontes diversas. Com relação às plantas superiores, apenas 9,5% haviam sido testadas quanto aos seus efeitos farmacológicos (Farnsworth 1997), revelando um grande potencial ainda não investigado. Este potencial fica mais evidente quando observamos que as drogas derivadas de plantas utilizadas atualmente são derivadas de apenas 95 espécies, a maioria de plantas superiores (Farnsworth & Morris 1976, Farnsworth & Soejarto 1985, Soejarto & Farnsworth 1989, Farnsworth 1997). Entre as Angiospermas, somente 15 a 20% de todas as espécies conhecidas já foram examinadas, mesmo que superficialmente, quanto à sua química ou ação farmacológica (Farnsworth & Soejarto 1991, Soejarto 1996). Assim, apesar da riqueza florística existente em toda zona tropical e da grande importância de seu uso medicinal pela população, o conhecimento científico ainda é muito incipiente.

Afinal, qual a importância para a sociedade do estudo destes recursos? Entre as várias contribuições que este tipo de pesquisa pode proporcionar, podem ser mencionadas:

- 1) a descoberta de novas drogas que podem causar grande impacto na medicina (Malone 1983); como exemplos, podem ser citadas a morfina (derivada de *Papaver somniferum* L. – Papaveraceae),

- a reserpina (derivada de *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz - Apocynaceae) e a pilocarpina (obtida de *Pilocarpus* spp. - Rutaceae), assim como outras drogas que estão sendo pesquisadas para a cura do câncer e da Aids;
- 2) a descoberta de fontes alternativas de drogas de uso corrente (Lewis & Elvin-Lewis 1985);
  - 3) a identificação de efeitos farmacológicos diferentes daqueles atribuídos atualmente a determinada droga (Peigen 1983).

A Tabela 1 apresenta algumas espécies vegetais que são fontes de constituintes químicos em uso na área médica. Há uma grande diversidade de espécies vegetais ainda não estudadas quanto à sua capacidade de produzir substâncias ativas de interesse na área médica. Potencialmente, as espécies vegetais são uma importante fonte de compostos químicos que, eventualmente, poderão ser úteis no tratamento de doenças. Por fim, há um processo em curso de redução dessa diversidade, em grande parte pela falta de sintonia entre o processo de desenvolvimento econômico da sociedade e a conservação dos recursos naturais. A questão que surge neste ponto é que, considerando todo o potencial existente no reino vegetal, quais as dificuldades que justificam o pequeno número de compostos ativos obtidos e disponíveis para uso até o momento?

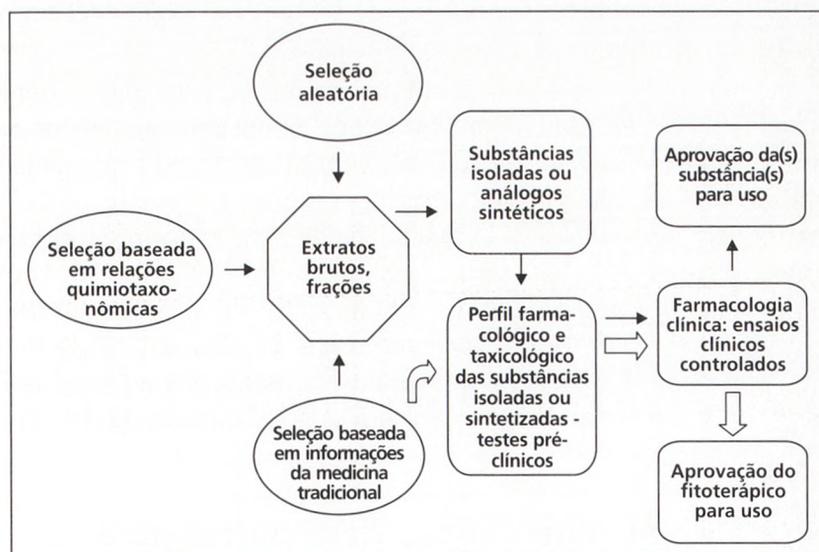
Numa análise ampla podemos destacar alguns fatores. O primeiro está baseado nas relações que existem entre os custos envolvidos e o tempo despendido na pesquisa e desenvolvimento de substâncias biologicamente ativas a partir de plantas. Apesar de algumas variações acerca da abordagem empregada na procura de substâncias biologicamente ativas, a Figura 1 apresenta as principais atividades envolvidas. Este processo pode requerer vários anos de pesquisa e consumir milhões de dólares (Carlini 1983), além de um volume cada vez maior de matéria-prima vegetal para a execução das futuras das pesquisas, podendo envolver toneladas nas etapas finais (Soejarto 1996). Os custos para o desenvolvimento de uma única droga estão estimados entre 50 e 100 milhões de dólares (Soejarto & Farnsworth 1989). Além dos altos custos envolvidos, é necessário dispor-se de matéria prima e de tecnologia. As tecnologias mais avançadas na área de produtos naturais se concentram em nações mais desenvolvidas, enquanto que o objeto da pesquisa de maior interesse – diversidade vegetal – se concentra nas regiões tropicais do globo, grande parte em nações em desenvolvimento. O reconhecimento desse quadro, bem como das repercussões econômicas geradas por eventuais descobertas,

**Tabela 1.** Princípios ativos disponíveis para uso industrial obtidos a partir de plantas.

Compostos	Espécie	Família	Categoria terapêutica
Ajmalicina	<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth. ex Kurz	Apocynaceae	Estimulante circulatório
Andrographolida	<i>Andrographis paniculata</i> Nees	Acanthaceae	Antibacteriano
Arecolina	<i>Areca catechu</i> L.	Palmae	Anti-helmíntico
Asiaticosida	<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban	Apiaceae	Vulnerário
Atropina	<i>Atropa belladonna</i> L.	Solanaceae	Anticolinérgico
Bromelina	<i>Ananas comosus</i> (L.) Merrill	Bromeliaceae	Antiinflamatório
Cocaína	<i>Erythroxylum coca</i> Lam.	Erythroxylaceae	Anestésico
Morfina/codeína	<i>Papaver somniferum</i> L.	Papaveraceae	Analgésico, antitussígeno
Curcumina	<i>Curcuma longa</i> L.	Zingiberaceae	Colerético
Deserpidina	<i>Rauvolfia tetraphylla</i> L.	Apocynaceae	Antihipertensivo, tranquilizante
Digitoxina, digoxina	<i>Digitalis purpurea</i> L.	Scrophulariaceae	Cardiotônico
Diogenina	<i>Dioscorea</i> spp.	Dioscoreaceae	Contraceptivo, corticosteróide
Emetina	<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes	Rubiaceae	Amebicida, emético.
Escopolamina	<i>Atropa belladonna</i> L.	Solanaceae	Sedativo
Estricnina	<i>Strychnos nux-vomica</i> L.	Loganiaceae	Estimulante do Sistema Nervoso Central
Fisostigmina	<i>Physostigma venenosum</i> Balf.	Leguminosae	Anticolinesterase
Glaucarubina	<i>Simarouba glauca</i> DC.	Simaroubaceae	Amebicida
Glaziovina	<i>Ocotea glaziovii</i> Mez	Lauraceae	Antidepressivo
Gossipol	<i>Gossypium</i> spp.	Malvaceae	Contraceptivo masculino
L-Dopa	<i>Mucuna deeringiana</i> (Bort.) Merrill	Leguminosae	Anti-parkinsoniano
Monocrotalina	<i>Crotalaria spectabilis</i> Roth	Leguminosae	Agente antitumoroso (tóxico)
Pilocarpina	<i>Pilocarpus</i> spp.	Rutaceae	Parassimpaticomimético – glaucoma.
Quinidina/quinina	<i>Cinchona ledgeriana</i> Moens ex Trimen	Rubiaceae	Antiarrítmico, antimalárico, antipirético
Reserpina	<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth. ex Kurz	Apocynaceae	Anti-hipertensivo, tranquilizante
Rutina	<i>Citrus</i> spp.	Rutaceae	Anti-hemorragico capilar
Rutina	<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.	Leguminosae	Anti-hemorragico capilar
Tubocurarina	<i>Chondrodendron tomentosum</i> Ruiz et Pavon	Menispermaceae	Relaxante muscular
Vinblastina, vincristina	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don	Apocynaceae	Agentes anticâncer

Fontes: Farnsworth (1997); Soejarto & Farnsworth (1989).

tem fomentado discussões nos âmbitos acadêmico, industrial e político sobre as patentes, e sobre o direito de repartição de benefícios econômicos futuros, particularmente quando a pesquisa é baseada em conhecimentos tradicionais locais (Baker et al. 1995, Rivier & Soejarto 1996, Rouhi 1997). A pesquisa envolve riscos e incertezas, uma vez que o produto final desejado deve satisfazer uma expectativa particular, atender, ao mesmo tempo, às condições de seguridade requeridas para a sua utilização em humanos e ser economicamente competitiva com as demais drogas existentes no mercado. Além disso, substâncias ou grupos de substâncias potenciais podem não ser encontrados, ou, se encontrados, isolados e julgados promissores, podem apresentar efeitos colaterais indesejáveis e, dessa forma, não terem aplicabilidade. Uma abordagem alternativa é apresentada por Carlini (1983), em que, a partir de plantas utilizadas na medicina tradicional ou popular, o tempo requerido entre a pesquisa e emprego pode ser reduzido. Nesse modelo, plantas utilizadas tradicionalmente são estudadas nos níveis pré-clínicos e clínicos, a partir das formas de preparos originais. O uso da planta *in natura* é amparado pelos estudos de eficácia e toxicidade. Neste esquema, de acordo com a Figura 1, alguns passos



**Figura 1.** Esquema geral indicando os passos envolvidos no desenvolvimento de novas drogas a partir de plantas. → Caminhos seguidos pela indústria farmacêutica; ⇨ Pesquisa etnofarmacológica. Adaptado de Carlini (1983) e Elizabetzki (1987).

percorridos pelas indústrias farmacêuticas na procura de novas drogas são eliminados ou simplificados (Carlini 1983, Elizabetzki 1987). Outra consequência dessa abordagem, é a possibilidade de obtenção de medicamentos com custo reduzido.

Um outro obstáculo eventual ao desenvolvimento de uma nova droga a partir de plantas pode estar relacionado ao rendimento, ou seja, à obtenção de baixas quantidades de substâncias ou princípios ativos. A pesquisa tem procurado superar este obstáculo utilizando os produtos naturais isolados como modelos a serem utilizados no processo de síntese ou semi-síntese (Gottlieb & Mors 1980, Balandrin et al. 1985). Esta alternativa, quando economicamente viável, pode eliminar ou reduzir a necessidade de grandes volumes de matéria-prima para a sua extração, geralmente de forma onerosa e com impactos ambientais indesejáveis. Por outro lado, os testes biológicos têm suas especificidades, podendo não sinalizar atividade para determinada categoria terapêutica, mas podendo ser ativo em outra, eventualmente não testada. Esta limitação tem sido superada pelo aprimoramento e pela diversificação dos testes biológicos, assim como pelo uso de modernos métodos de isolamento e de caracterização das estruturas químicas (Abelson 1989, McLaughlin et al. 1991), economizando tempo e recursos.

Nos anos 80, a busca racional por drogas ou princípios bioativos pela indústria farmacêutica era guiada por bioensaios específicos para enzimas, receptores, DNA, etc, e também motivada pelo conhecimento de mecanismo de ação de novas substâncias químicas bioativas. Dentro desse modelo, uma indústria farmacêutica de grande porte selecionava, em média, cerca de 5.000 substâncias por ano. Nos anos 90, com o advento da química combinatória e bioensaios em larga escala (*High-throughput screening* – HTS, os programas de descoberta de novos fármacos mudaram radicalmente, sendo possível testar aquele mesmo número de substâncias (e até mais) em apenas um dia (Montanari & Bolzani 2001).

### **3. Estratégias para seleção de espécies para estudos químicos e farmacológicos**

A primeira etapa na pesquisa de substâncias biologicamente ativas a partir de plantas é a definição dos táxons a serem incluídos em determinada

pesquisa ou programa (Figura 1). A abordagem adotada inicialmente pode repercutir de forma preponderante no tempo despendido na descoberta de uma nova droga.

A seguir são discutidos os critérios para seleção de plantas (aleatório, quimiotaxonômico ou baseado na medicina tradicional), os quais devem ser considerados para a inclusão de determinado táxon em projetos de coleta e conservação de germoplasma de plantas medicinais.

### 3.1. Seleção aleatória

A primeira dessas abordagens diz respeito à escolha aleatória das espécies a serem investigadas. Neste caso, são considerados, ao acaso, táxons de diversas famílias botânicas e em diversos tipos de vegetação. Os extratos brutos ou frações provenientes desses materiais botânicos passam por ensaios para a determinação de uma ou mais atividades farmacológicas em níveis pré-clínicos (em animais de laboratório) e apenas posteriormente em testes clínicos controlados em humanos. Um exemplo da aplicação dessa abordagem é o da pesquisa coordenada pelo *National Cancer Institute* (NCI), nos Estados Unidos, onde milhares de amostras de plantas já foram submetidas a ensaios biológicos na procura de substâncias anti-cancerígenas e anti-HIV. Até meados da década de 1990, cerca de 60.000 plantas já tinham sido coletadas pelo NCI, em mais de 25 países, por meio de agentes como o *Missouri Botanical Garden* (África e Madagascar), *New York Botanical Garden* (América Latina) e *University of Illinois* (Sudeste da Ásia). Cerca de 87.000 diferentes extratos haviam sido obtidos de 40.000 plantas e testados *in vitro* para atividade citotóxica seletiva contra linhagens de células de câncer humano, incluindo leucemia, câncer de mama, sistema nervoso central, colo, pulmões, ovário, próstata e renal, como também Aids (Cragg et al. 1996).

Devido aos efeitos adversos apresentados pelas drogas obtidas, e levado em conta o problema da segurança na sua administração em humanos, apenas uma dessas drogas (o Taxol, extraído de *Taxus brevifolia* Nutt., Taxaceae) foi aprovada pelo *Federal Drug Administration*, FDA (Soejarto 1996). Outro exemplo bem-sucedido da utilização da seleção aleatória é o da descoberta dos alcalóides vincristina e vinblastina, extraídos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae), o primeiro utilizado no tratamento de leucemia infantil, e o segundo, no tratamento da "doença de Hodgkin" (um tipo de linfoma) e outros neoplasmas

(Farnsworth 1997). Uma característica da seleção aleatória é o elevado custo do processo, além da necessidade de recursos e de sistemas de testes biológicos reproduzíveis em várias atividades biológicas.

### 3.2. Seleção baseada em relações quimiotaxonômicas

A grande diversidade de metabólitos secundários de origem vegetal, sobre os quais recaem os maiores interesses da pesquisa de substâncias com atividade biológica é considerada resultado da relação evolutiva entre populações de plantas e seus predadores, herbívoros, patógenos e polinizadores, ou é resultado de uma adaptação química ao estresse ambiental (Balandrin et al. 1985, Harborne 1993).

Considera-se que, uma vez conhecida a produção de determinado composto em um táxon, as chances desse composto, ou de um similar, ser encontrado em outro táxon será tanto maior quanto maiores forem as afinidades taxonômicas entre eles (Soejarto 1996, Kubitski 1996). Assim, por exemplo, a identificação de fontes promissoras de solasodina, alcalóide esteroidal usado como precursor para a síntese de hormônios sexuais em espécies de *Solanum* (Solanaceae), colocam as outras espécies do gênero como promissoras fontes alternativas do mesmo alcalóide ou de um análogo. Da mesma forma, podem ser consideradas as espécies de *Dioscorea* na produção de diosgenina, uma saponina análoga à solasodina e com mesmo emprego.

### 3.3. Seleção baseada no uso tradicional

Considera-se que as plantas selecionadas com base nas propriedades medicinais atribuídas por diferentes grupos culturais e para fins comuns, apresentam uma grande probabilidade de possuir princípios ativos de interesse. As informações sobre plantas medicinais contidas nas culturas populares e indígenas são o resultado de um processo de experimentação natural e sistemática ao longo dos anos, vindos dos seus antepassados, trazendo, portanto, informações milenares sobre o emprego dessas plantas como medicamentos (Schultes 1991). Desta forma, supõe-se que a seleção de plantas baseada nessas informações poderia encurtar o caminho para a descoberta de novas drogas (Soejarto 1996, Rouhi 1997).

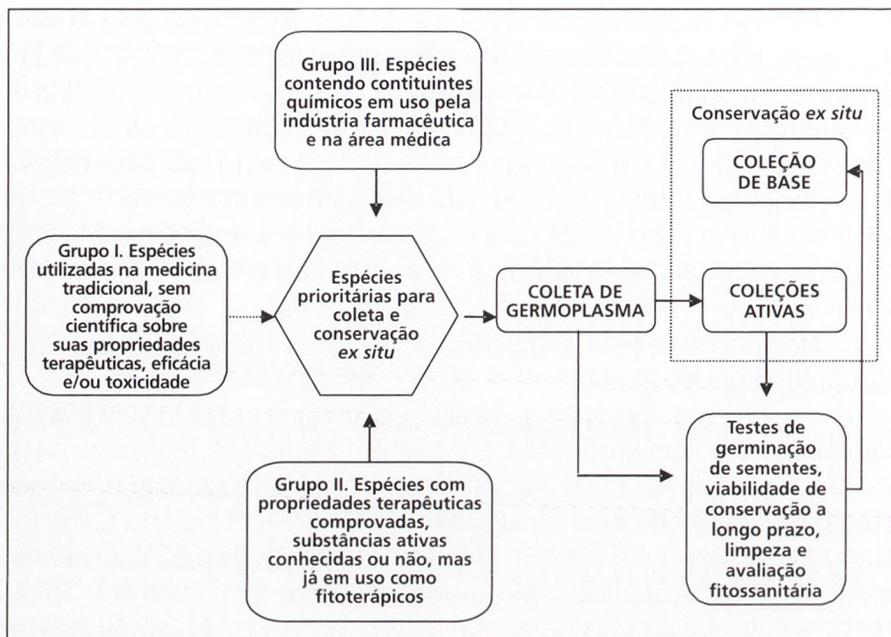
De fato, esta idéia tem sido apoiada por evidências numéricas, uma vez que cerca de 74% dos 121 compostos biologicamente ativos provenientes de plantas e que são usadas como drogas mundo afora, possuem usos idênticos ou similares aos das plantas de onde estes compostos foram extraídos (Farnsworth et al. 1985). A China, por exemplo, até a década de 1980, havia registrado 60 novos medicamentos com base em informações etnofarmacológicas, representando cerca de 58% de todos os produtos farmacêuticos desenvolvidos no mesmo período (Peigen 1983).

No Brasil, a extinta Central de Medicamentos (Ceme) criou, em 1983, um programa de pesquisa sobre plantas medicinais com o objetivo de validar o seu emprego, pela população, e tentar encurtar o processo de descoberta de novas drogas, além de tornar o medicamento mais acessível às populações carentes. A seleção inicial das espécies estudadas foi feita com base no levantamento realizado pelo Programa Flora, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Várias espécies foram submetidas a estudos farmacológicos em nível pré-clínico, tendo algumas alcançando a etapa clínica. Entre as espécies cujos usos tradicionais foram validados e que não apresentaram toxicidade, podem ser citadas a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. Celastraceae), que possui ação antiúlcera e o guaco (*Mikania glomerata* Spreng. Asteraceae), um broncodilatador.

#### **4. Seleção de espécies para a coleta e conservação *ex situ***

Conhecendo-se as etapas básicas do processo de busca de fármacos a partir de plantas, abre-se um caminho para a discussão de quais plantas deveriam ser priorizadas em um esforço para a conservação de sua variabilidade genética *ex situ*. Dentro do universo de espécies vegetais denominadas "medicinais", podemos identificar três grandes grupos, ilustrados na Figura 2.

Considerando o grande universo de plantas medicinais, torna-se inevitável o estabelecimento de níveis de prioridades para o desenvolvimento de trabalhos envolvendo conservação *ex situ*. Uma vez estabelecidas prioridades, estas podem melhorar a eficiência das ações relativas à coleta e conservação de germoplasma, otimizando a tarefa de reunir a variabilidade genética desejada. Os níveis de prioridade possibilitam a identificação



**Figura 2.** Esquema geral do processo de seleção de espécies para inclusão em atividades de coleta de germoplasma e principais destinos do germoplasma para sua conservação *ex situ*.

de espécies ou grupos de espécies que se encontram mais vulneráveis na natureza e que necessitem de ações imediatas. Possibilita também uma maior articulação entre as várias áreas do conhecimento e dos grupos de pesquisa, identificando eventuais lacunas que devam ser supridas. Trata-se de uma tarefa minuciosa, em grande parte, pela fragmentação das informações existentes nas mais diversas áreas.

A conservação de recursos genéticos de plantas medicinais se apóia também em informações geradas por outras áreas do conhecimento, seja a taxonomia, a biogeografia, a etnobotânica ou a química e a farmacologia de produtos naturais. A integração dessas informações é fundamental na definição das espécies ou dos grupos de espécies a serem priorizados em trabalhos de coleta e conservação de germoplasma *ex situ* a longo prazo, ao mesmo tempo em que contribui para a agregação de valor a fim de justificar políticas de conservação *in situ*, indicando alternativas de exploração sustentável dos recursos florísticos.

Partindo-se dos três grandes grupos de plantas medicinais relacionados na Figura 2, as espécies que merecem maior prioridade de inclusão em trabalhos de coleta e conservação *ex situ* a longo prazo são aquelas incluídas nos grupos II e III. Os táxons presentes nesses grupos têm seus materiais botânicos (folhas, raízes, casca, etc.) amplamente utilizados de forma direta ou indireta na produção de medicamentos ou no comércio informal de plantas medicinais, sendo obtidos principalmente através do extrativismo. Como exemplo do grupo II, pode ser citado a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) (Ceme 1988); e do grupo III a ipecacuanha (*Psychotria ipecacuanha*) (Skorupa & Assis 1998) e o jaborandi (*Pilocarpus* spp.) (Pinheiro 1997).

Adicionalmente, ainda deve ser considerada a pressão de exploração a que estão submetidos esses táxons. Dessa forma, espécies com ciclos de vida curtos, mecanismos eficazes de dispersão a longa distância e que apresentam estratégias ecológicas que permitem a manutenção de um banco de sementes no solo ao longo dos anos, em geral tem uma ampla distribuição geográfica, com menores riscos de redução dessa distribuição e de perdas de variabilidade genética sob exploração. Já os táxons com ciclos de vida relativamente longos e/ou mecanismos de dispersão a longa distância menos eficientes tem distribuições mais agregadas, estando sujeitos a maiores impactos negativos em suas distribuições e, muito certamente, em sua variabilidade genética sob exploração intensa. No primeiro caso, podem ser citadas as plantas invasoras de culturas e, no segundo, as espécies arbóreas.

Espécies do grupo I, utilizadas na medicina tradicional, embora se apresentem com grande potencial, são tratadas genericamente dentro de um grupo de espécies "potencialmente medicinais". Estas são consideradas, em um primeiro momento, dentro da estratégia de conservação *in situ*, onde também estão incluídos, indiscriminadamente, todos os táxons pouco ou nada conhecidos da nossa flora. Vale ressaltar que, embora em relação à conservação *ex situ* estas espécies tenham baixa prioridade, sob o ponto de vista etnofarmacológico ou da pesquisa de produtos naturais podem vir a ser altamente prioritárias. Desta forma, táxons presentes neste grupo podem migrar, a qualquer momento, para os grupos de maior prioridade na conservação *ex situ*, dependendo do grau de conhecimento alcançado, potencial demonstrado e, finalmente, das evidências de pressão de exploração e da redução de sua variabilidade genética na natureza. Finalmente, deve ser entendido que as prioridades

que aqui se tenta estabelecer não implicam a indicação de uma maior ou menor importância do(s) táxon(s) envolvidos em um ou em outro grupo, mas são uma tentativa de atender demandas emergenciais no que diz respeito à vulnerabilidade do táxon na natureza. Na Tabela 2, uma lista com algumas espécies consideradas prioritárias para conservação *ex situ*, de acordo com os critérios acima sugeridos.

**Tabela 2.** Táxons considerados prioritários para inclusão em programas de coleta de germoplasma, visando sua conservação *ex situ*.

Táxons	Família	Ação farmacológica/Substância ativa ou marcador químico
<i>Achyrocline satuireioides</i> (Lam.) DC.; <i>Achyrocline alata</i> (Kunth) DC.	Asteraceae	Hipotensivo, espasmolítico
<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Asteraceae	Antiinflamatório
<i>Baccharis trimera</i> DC.	Asteraceae	Distúrbios hepáticos
<i>Bauhinia forficata</i> L.	Leguminosae	Antidiabético
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban	Apiaceae	Vulnerário
<i>Chondrodendron tomentosum</i> Ruiz et Pavon	Menispermaceae	Anestésico/Tubocurarina
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Leguminosae	Antiinflamatório
<i>Cordia curassavica</i> (Jacq.) Roem. & Schult.	Boraginaceae	Antiinflamatório
<i>Croton cajucara</i> Benth.	Euphorbiaceae	Linalol
<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoff.	Euphorbiaceae	Anetol, eugenol
<i>Datura insignis</i> Barb. Rodr.	Solanaceae	Escopolamina
<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.	Leguminosae	Anti-hemorrágico capilar/Rutina
<i>Dioscorea</i> spp.	Dioscoreaceae	Contraceptivo oral/Diogenina
<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. & Schldl.) Micheli; <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Kunth.) Micheli	Alismataceae	Diurético
<i>Hypericum brasiliense</i> Choisy; <i>Hypericum cordatum</i> (Vell.) N. Robson	Clusiaceae	Antidepressivo/Hiperforina
<i>Jatropha elliptica</i> (Pohl) Baill.	Euphorbiaceae	Jatrophona
<i>Lippia</i> spp.	Verbenaceae	Antimicrobiano/óleos essenciais
<i>Lychnophora ericoides</i> Mart.; <i>Lychnophora salicifolia</i> Mart.	Asteraceae	Óleos essenciais
<i>Mandevilla vellutina</i> Mart.	Apocynaceae	Antiinflamatório, bradiquinina antagonista
<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reiss.; <i>Maytenus aquifolium</i> Mart.	Celastraceae	Agente antiúlcera gástrica
<i>Mikania glomerata</i> Spreng.; <i>Mikania laevigata</i> Schultz-Bip ex Baker	Asteraceae	Broncodilatador
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. Allem.	Anacardiaceae	Agente antiinflamatório, antiúlcera
<i>Ocotea glaziovii</i> Mez	Lauraceae	Antidepressivo/Glaziovina
<i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rohwer	Lauraceae	Safrol, metileugenol
<i>Piper hispidinervium</i> C. DC.	Piperaceae	Safrol
<i>Pfaffia glomerata</i> Spreng.; <i>Pfaffia paniculata</i> (Mart.) Kuntze	Amaranthaceae	Agentes antitumorais

**Tabela 2.** Continuação.

<b>Táxons</b>	<b>Família</b>	<b>Ação farmacológica/Substância ativa ou marcador químico</b>
<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach.; <i>Phyllanthus niruri</i> L.	Euphorbiaceae	Hepatite B, cálculo renal
<i>Pilocarpus</i> spp.	Rutaceae	Parassimpaticomimético/ Pilocarpina
<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes	Rubiaceae	Emético, amebicida, expectorante/Emetina, cefalina
<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel	Leguminosae	Analgésico, cercaricida
<i>Ptychopetalum olacoides</i> Benth.	Olacaceae	Afrodisíaco/Muirapuamina
<i>Solanum mauritianum</i> Scopoli	Solanaceae	Solasodina
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	Leguminosae	Antiinflamatório/Taninos
<i>Tabebuia avellanedae</i> Lor. ex Griseb.	Bignoniaceae	Lapachol
<i>Vanillosmopsis arborea</i> (Aguiar) Ducke	Asteraceae	Bisabolol

## 5. Coleta de germoplasma

Os procedimentos sugeridos para o planejamento e execução de expedições que visem a coleta de germoplasma de plantas medicinais são, essencialmente, os mesmos empregados na coleta de germoplasma de plantas cultivadas ou de seus parentes silvestres. Incluem-se, aqui, os materiais e equipamentos básicos utilizados em expedições de coleta, procedimentos legais, autorizações necessárias, etc. Peculiaridades, envolvendo a coleta de espécies medicinais, são aqui destacadas.

### 5.1. Equipe

Um dos pontos importantes no planejamento de atividades, de coleta e conservação de germoplasma, é a formação da equipe de trabalho, aqui entendida como o grupo formado pelos pesquisadores e pessoal técnico de apoio, os quais estarão envolvidos diretamente nas atividades de coleta, ou desempenhando outras atividades, laboratoriais ou de campo, na conservação, caracterização e avaliação do germoplasma. Nesta fase, onde os envoltimentos institucionais devem ser formalmente consolidados, também são definidos os níveis de comprometimento de cada instituição em fases específicas do planejamento, coleta e conservação do germoplasma. Nesse ponto, o local para o estabelecimento de Coleção(ões) Ativa(s) ou Bancos de Germoplasma deve ser discutido e definido. Assim, em função da missão de cada instituição, e de acordo

com a disponibilidade de pessoal técnico e de apoio, além da infra-estrutura disponível em cada uma delas, são avaliados os custos necessários para a viabilização da participação. Estes custos, que vão desde os gastos com diárias dos participantes, consultorias e outros serviços de terceiros, transporte, além de materiais como reagentes, solventes, etc., devem ser rigorosamente previstos, sob risco de se comprometer alguma etapa.

É desejável, em projetos de coleta de germoplasma de plantas medicinais, a participação de instituições que proporcionem a formação de grupos multidisciplinares, uma vez que, dependendo do objetivo final da pesquisa, podem envolver diversas áreas do conhecimento. Entre essas áreas estão a botânica sistemática, a química de produtos naturais, a farmacologia de produtos naturais, a etnobotânica, a fisiologia de sementes, a fitotecnia, a biotecnologia, etc.

Embora a composição da equipe de campo possa ser alterada de uma expedição para outra, a manutenção de uma composição nuclear é aconselhável. Dentro dessa composição estável é aconselhável a participação de um taxonomista, se possível um especialista no(s) táxon(s) envolvido(s), e de um profissional da área de farmacologia de produtos naturais, ou de etnofarmacologia, quando a pesquisa recair sobre comunidades tradicionais, onde a coleta e acondicionamento adequado do material para testes laboratoriais, bem como o registro de informações específicas, podem ser determinantes em fases posteriores da pesquisa.

## **5.2. Informações básicas requeridas e tipos de coleta**

Uma vez identificada(s) a(s) espécie(s)-alvo para a coleta de germoplasma, é também necessário identificar o estágio atual da pesquisa, seja nas áreas química, farmacológica, agrônômica, e mesmo de recursos genéticos, nas quais a espécie ou grupo de espécies está envolvida. Isso define uma série de procedimentos a serem adotados tanto na própria atividade de coleta, como nas etapas posteriores de conservação do germoplasma coletado.

Dessa forma, pesquisas que objetivam a conservação de germoplasma, requerem, em um primeiro momento, a reunião de informações básicas. Algumas, eventualmente, podem já estar disponíveis na literatura ou em instituições de pesquisa (ex.: herbários, banco de dados) e devem ser

organizadas. As principais dizem respeito ao conhecimento taxonômico das plantas envolvidas (revisões taxonômicas, floras regionais, etc), sua distribuição geográfica, dados etnobotânicos, épocas de florescimento e frutificação, exigências ecológicas, sistemas de reprodução (se alógamas ou autógamias), entre outras. Evidentemente, muitas dessas informações podem inexistir, ou estarem incompletas, o que requer investigações adicionais. Isso quase sempre será verdadeiro, tratando-se, portanto, de um campo fértil para a Botânica Sistemática e a Ecologia.

Outro grupo de informações básicas diz respeito à viabilidade de conservação do germoplasma coletado na forma de sementes para longo prazo em câmaras frias. As sementes são classificadas basicamente em três grupos (Roberts 1973, Ellis et al. 1990, 1991):

- 1) Sementes ortodoxas: suportam o abaixamento de seu teor de umidade (4%-6%) e podem ser armazenadas por longo prazo em temperaturas abaixo de zero;
- 2) Sementes recalcitrantes: não suportam o abaixamento de seu teor de umidade a determinados níveis, havendo restrições quanto à sua conservação em temperaturas abaixo de zero;
- 3) Sementes com comportamento intermediário: sofrem danos ao ter o seu teor de umidade reduzido abaixo de 10%, ou sofrem injúrias com o frio.

A depender dessas avaliações preliminares, poderá haver demanda por informações adicionais relacionadas a métodos alternativos para a regeneração ou conservação dos acessos coletados. A exemplo disso podem ser citadas a necessidade do estabelecimento de protocolos para o enraizamento de estacas com o uso de reguladores de crescimento, técnicas culturais para manutenção no campo, cultura *in vitro*, etc.

Assim, nas fases iniciais de um trabalho, justifica-se a realização de "expedições exploratórias", também conhecidas como "prospecções", que, além de permitirem um maior conhecimento sobre a distribuição geográfica das espécies, propiciam observações de campo quanto às condições ecológicas do táxon na natureza, e viabilizam a coleta de material de propagação destinado a pesquisas básicas que visem responder questões-chave sobre as formas ou limitações de regeneração e conservação do germoplasma. Embora possa ser uma estratégia onerosa (ver Capítulo 5), este procedimento, além de evitar perda de recursos ou mesmo de germoplasma no futuro, possibilita a capacitação

da equipe no envolvimento com o(s) táxon(s) trabalhado(s). Ademais, o material utilizado nessas pesquisas, desde que devidamente identificado e satisfazendo as condições fisiológicas e fitossanitárias requeridas, pode ser incorporado posteriormente à rotina de conservação *ex situ* como germoplasma-semente (Goedert 1988) ou *in vitro* (Souza 1988), ou mesmo no campo. Dado o fato dessas expedições serem de reconhecimento, é comum, ao final das mesmas, a reunião de uma menor variabilidade genética dos táxons envolvidos, quando comparadas com os resultados de expedições posteriores, quando o volume de informações sobre o(s) táxon(s), assim como a capacitação da equipe no trato com o produto, terão atingido níveis superiores.

As informações básicas obtidas nas prospecções apóiam a discussão e a definição das estratégias mais viáveis ou vantajosas, a serem consideradas posteriormente no planejamento das expedições de coleta de germoplasma propriamente ditas. Ao contrário das expedições exploratórias, as expedições de coleta de germoplasma têm uma preocupação maior em relação à reunião de uma representatividade genética de cada amostra populacional, ou acesso, com vistas a sua conservação por longo prazo.

Expedições não previstas podem também ser realizadas em caso de demandas específicas, quando se julgar necessário, com a finalidade de ampliar uma amostragem populacional, quando houver a identificação de características de interesse no material previamente coletado, seja genotípicas ou fenotípicas (potencial químico, produção de biomassa, arquitetura da planta, resistência a patógenos, tolerância a solos ácidos ou a pragas, etc.), ou mesmo visando uma reposição em caso de eventuais perdas.

Nos casos tratados acima, a atenção está dirigida para uma espécie ou um pequeno grupo de espécies. Eventualmente, contudo, poderão ser realizadas expedições com o objetivo de levantar a flora medicinal de determinada região, ou mesmo de resgatar germoplasma em áreas ameaçadas (construção de hidrelétricas, estradas, etc). Nesses casos, poderá haver necessidade de coletas diversificadas, quase sempre de caráter exploratório, mas envolvendo várias espécies, onde as questões discutidas anteriormente serão evidenciadas e deverão ser equacionadas, muitas vezes no próprio local de coleta, principalmente quanto a definição do tipo de germoplasma a ser coletado (sementes, mudas, estacas ou gemas) e a forma de sua manutenção posterior *ex situ*. Problemas dessa

natureza podem ser exemplificados quando consideramos espécies do Cerrado com longos xilopódios ou tubérculos ou de essências florestais. Assim, em coletas diversificadas, ditas de “varredura”, o sucesso em se alcançar uma amostragem geneticamente representativa das populações pode ser comprometido, considerando as características próprias de cada táxon, como épocas de florescimento e frutificação. Neste caso, táxons em que procedimentos de coleta e conservação já foram estabelecidos poderão ser melhor beneficiados.

Deve ser destacado que, embora sejam empregadas designações diferentes para expedições de coleta, todas, independentemente do estágio em que se encontra o projeto, levam consigo um objetivo maior, que é a coleta de variabilidade genética. O sucesso em se atingir este objetivo será tanto maior quanto maior for o conhecimento agregado e a experiência adquirida pela equipe no trabalho com o produto.

### **5.3. Definição dos locais de coleta**

No planejamento de expedições para a coleta de germoplasma, uma vez definidas as espécies ou grupos de espécies a serem trabalhados e concluído o levantamento das informações básicas sobre as mesmas, a equipe deve definir os locais ou regiões a serem percorridos. Dependendo do tipo de expedição programada, esta definição poderá ser influenciada pelos dados de distribuição geográfica presentes na literatura, em registros de herbários, em experiências anteriores relatadas por outras equipes na coleta de outros produtos e, no caso de expedições de coleta de germoplasma, pelos dados levantados nas expedições exploratórias.

Infelizmente há uma carência generalizada de informações sobre a distribuição geográfica das espécies da flora brasileira, fato que está estreitamente relacionado às lacunas de seu estudo taxonômico. No entanto, quando existentes, essas informações são valiosas, podendo em alguns casos, identificar eventuais centros de diversidade genética ou áreas sob risco, onde as atividades de coleta deveriam ser priorizadas (Skorupa 1996, Skorupa & Assis 1998).

Os locais de coleta de germoplasma, no entanto, podem variar enormemente, podendo se dar em feiras livres, notadamente em localidades do interior do país, em quintais particulares, em ambientes diversos, como em áreas indígenas com acompanhamento de informantes (raizeiros, curandeiros, etc.). Coletas nesses locais são particularmente

importantes no caso de plantas medicinais, em expedições exploratórias ou em coletas diversificadas, incluindo-se, aqui, coletas de resgate de germoplasma em áreas sob risco antrópico.

Além da reunião de informações básicas, da definição das equipes (de coleta, de campo/conservação e de laboratório) e dos locais de coleta a serem percorridos, outras questões também devem ser consideradas, como abaixo:

- 1) meio de transporte adequado para a condução da equipe às áreas escolhidas previamente, bem como para o transporte do material a ser coletado;
- 2) materiais necessários para a coleta do germoplasma (ferramentas, meios de acondicionamento, cadernetas, etiquetas e outros minuciosamente descritos neste volume);
- 3) materiais necessários para a coleta e conservação de amostras laboratoriais para testes químicos ou farmacológicos a serem definidos pelos responsáveis por cada uma das atividades;
- 4) contatos prévios com instituições ao longo do itinerário, quando o apoio técnico ou logístico for necessário (coletas em reservas, parques, áreas particulares, etc.);
- 5) autorizações formais de órgãos públicos, quando o roteiro contemplar áreas de reservas, parques, áreas indígenas, etc.; e
- 6) previsão de remessas de germoplasma durante a expedição, incluindo a previsão de local e pessoal para a sua recepção adequada.

## 5.4. Amostragem

O processo de amostragem tem como principal objetivo a reunião de variabilidade genética representativa de cada população de plantas visitada. Recomenda-se que seja visitado o maior número possível de populações de plantas, contemplando várias regiões e os vários ambientes em que o táxon possa ocorrer, uma vez que a variabilidade é uma característica inerente às populações naturais (Harborne 1984). No caso de plantas medicinais, este procedimento é de relevância na identificação de genótipos promissores para a produção de metabólitos de interesse.

As recomendações sobre a melhor estratégia de amostragem de germoplasma são geralmente apresentadas na literatura considerando-se o fato das espécies-alvo serem cultivadas ou silvestres e se alógamas ou autógamas, assunto debatido em várias publicações (Brown & Marshall 1995, Lleras 1988, Vencovsky 1986), assim como em outros capítulos deste livro. De modo geral, há uma carência de informações sobre a variabilidade genética intrínseca das populações ou das estratégias reprodutivas das espécies, principalmente de espécies silvestres onde pode ser enquadrada a maioria das plantas medicinais, de modo que recomendações gerais podem não ter uma aplicação prática na maioria dos casos. Como recomendação comum para a coleta de germoplasma de plantas medicinais, sugere-se:

- 1) para conservação da variabilidade genética, coletar sementes de forma extensiva e casualizada em cada população, com pequenas amostras de sementes de muitas matrizes;
- 2) na ausência de sementes na ocasião da coleta, ou se houver em baixo número, proceder a amostragem ou complementá-la com a coleta de mudas ou de estacas para enraizamento posterior. No último caso, aplica-se o mesmo critério sugerido no item anterior;
- 3) em caso de identificação de matrizes de elite (p.ex.: alta produção de metabólitos de interesse, porte e arquitetura de destaque, etc), coletar material abundante, incluindo material vegetativo. O material assim coletado deve ser tratado em dois níveis: (a) como uma amostra separada, o que pode ser vantajoso em termos de tempo numa seleção posterior das características de interesse; (b) como parte da amostra principal, uma vez que é parte integrante da população (Lleras 1988).

## 5.5. Documentação do germoplasma

A coleta de germoplasma no campo deve ser acompanhada da coleta de material botânico comprobatório, ou exsicatas (“vouchers”). Este material, constituído por um ramo com folhas, flores e/ou frutos, é a prova documental da identidade do táxon coletado, proporcionando condições para checagens posteriores, a qualquer tempo, uma vez que estará depositado e disponível em herbários. Em pesquisas envolvendo plantas medicinais esta é uma questão de suma importância, uma vez

que pode assegurar a continuidade de uma pesquisa, quando houver a necessidade de coletas adicionais. Os procedimentos gerais para a coleta e preparo de material botânico são apresentados em mais detalhes no Capítulo 6. Juntamente com o material botânico, é também registrado um conjunto de informações diversas, que, além da sua identificação botânica (família, espécie), incluem outras relacionadas ao local da coleta, às condições ecológicas, entre outras. Esse conjunto de informações também é conhecido como “dados de passaporte”, os quais são, geralmente, apresentados em cadernetas de campo com espaços pré-formatados, orientando a equipe no seu preenchimento. Em algumas situações, a disponibilidade dessas informações pode ser apenas parcial, como no caso de obtenção de germoplasma em feiras livres, onde apenas os dados sobre o material de propagação (frutos ou sementes) e de sua origem podem ser registrados. O registro das informações inerentes ao material (características gerais e/ou particulares das estruturas vegetativas ou reprodutivas que podem ser alteradas durante a secagem, como a cor das estruturas, consistência, etc.) é adicionado às informações das condições ecológicas em que se encontra o material na natureza. Tratando-se de plantas medicinais, estas informações são particularmente importantes, uma vez que o alvo nessas espécies são as substâncias biologicamente ativas, em grande parte frutos de metabolismo secundário, cuja produção ou produtividade, supostamente, podem ser influenciadas pelas condições ambientais (Flück 1963, Vieira 2000). Dentre as informações desejáveis, estão aquelas referentes ao ambiente geral (tipo de vegetação e de solo) e às particularidades do local onde o material é encontrado (luminosidade, umidade, associação com outras espécies vegetais ou animais, frequência e distribuição no local, etc.). Coletar amostras de solo é, também, aconselhável. Em casos de identificação de matrizes de elite, informações minuciosas desses indivíduos devem ser registradas, além das informações gerais de toda a população.

Quando a coleta contemplar pesquisa etnobotânica, um elenco adicional de informações deve ser obtido. Essas informações dizem respeito à parte da planta utilizada, ao modo de preparo, a via de administração e a posologia. O registro fiel desses procedimentos é importante, uma vez que eles indicam como determinado grupo cultural descobriu a melhor eficácia terapêutica da espécie utilizada, bem como pode indicar a melhor maneira de extração dos princípios ativos numa etapa laboratorial posterior (Elizabetsky 1987). As informações básicas sobre

o material e as condições ecológicas locais comporão a etiqueta de identificação que acompanhará cada exemplar da coleção. Informações adicionais, referentes às propriedades medicinais da espécie, como descritas acima, poderão estar ou não presentes nessas etiquetas, ou registradas em formulários próprios, que acompanharão as exsicatas, ou não. Neste caso, as informações armazenadas em banco de dados deverão obrigatoriamente estar relacionadas com um único registro de coleta, incluindo a indicação do(s) herbário(s) onde o material botânico está depositado.

Toda amostra populacional, ou acesso, é identificada com um registro único para ser utilizado posteriormente. Em um primeiro momento, esse registro terá a denominação da coleta, isto é, os nomes dos participantes e um número seqüencial de coleta, geralmente do líder da expedição, sendo posteriormente substituído por um "código de acesso", conforme empregado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Esse identificador único do material coletado é representado pelo nome do gênero ou produto, seguido da sigla BRA, definida internacionalmente para Brasil, e o código do acesso (Morales 1988, ver também Capítulo 5, p.207). Exemplo: *Psychotria* BRA-000019.

## 5.6. Pós-coleta

A coleta de germoplasma não se encerra com o término das atividades de campo ou das expedições de coleta propriamente ditas. Ao final destas, tem lugar uma série de outros procedimentos, os quais são sumarizados abaixo:

- 1) seleção e cuidados com o germoplasma coletado: retirada das sementes dos frutos, se ainda não realizado no campo, limpeza e secagem; acondicionamento de mudas em vasos ou sacos plásticos, separação e identificação, preparo de estacas para enraizamento, etc.
- 2) encaminhamento de sementes para algum laboratório de análise de semente para a realização de testes de germinação, visando a determinação do poder germinativo e, se for o caso, para a realização de testes, visando identificar se as sementes são ortodoxas ou recalcitrantes;
- 3) encaminhamento das mudas e dos materiais de propagação vegetativa para casas-de-vegetação ou telados;

- 4) distribuição do germoplasma: encaminhamento de mudas ou de amostras de sementes para coleções em locais previamente escolhidos;
- 5) preparação do material botânico coletado (exsicatas): secagem final, fumigação e encaminhamento ao herbário para a aferição das identificações botânicas previamente realizadas, sua incorporação ao acervo e distribuição de duplicatas para os herbários de outras instituições de pesquisa;
- 6) conclusão do preenchimento da caderneta de campo: checagem dos registros de identificação botânica, realizadas no campo, e atribuição dos códigos de produto e acesso para cada amostra;
- 7) digitação da caderneta de campo e emissão de etiquetas, se for o caso (ver Capítulo 5);
- 8) preparação do relatório da expedição: incluir área percorrida, descrição dos táxons e germoplasma coletado, mapas, observações de campo, sugestões para futuras expedições, etc.

## 6. Destino do germoplasma

O destino do germoplasma de plantas medicinais proveniente de coleta dependerá da natureza da expedição realizada, dos produtos dela resultantes, bem como da natureza do germoplasma obtido, se sementes, mudas, estacas, ou outro material de propagação vegetativa.

Germoplasma coletado na forma de sementes tem como destino final a constituição de dois tipos de coleções: Coleção Ativa e Coleção de Base (Figura 2). A primeira destina-se à conservação por curto prazo, durante as fases de sua multiplicação no campo ou durante a caracterização morfológica, reprodutiva ou bioquímica dos acessos (Valls 1988). A Coleção Ativa também está aberta para introduções de germoplasma de outros países, quando for de interesse o enriquecimento da variabilidade genética disponível da espécie. É também o local para conservação por médio ou longo prazos, quando o táxon considerado não produzir sementes ou quando for de interesse multiplicar o germoplasma pela via vegetativa, evitando a segregação e eventuais perdas de características desejáveis; ou, ainda, quando houver interesse em conservar as matrizes no campo.

Ao contrário da Coleção Ativa, a Coleção de Base visa a conservação do germoplasma por longo prazo, geralmente em temperaturas sub-zero

(Goedert 1988). Se ortodoxas, as sementes obtidas da coleta em quantidades suficientes podem ser encaminhadas para a determinação de seu poder germinativo (mínimo de 85%), limpeza, desinfecção e armazenamento na Coleção de Base. Caso o número de sementes não seja suficiente, o material é levado ao campo em época adequada para sua multiplicação, podendo ser reencaminhado, posteriormente, para os testes de poder germinativo e fitossanidade. Se aprovadas, as sementes seguem para a Coleção de Base, onde são armazenadas em câmaras frias, com temperaturas que podem atingir  $-20^{\circ}$ . Enquanto não for possível a multiplicação do material, este pode ser mantido em câmaras frias temporárias ( $5^{\circ}\text{C}$ , 30% de umidade relativa, método adotado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cenargen). Esta técnica também é válida para o germoplasma adquirido via introdução ou intercâmbio.

No caso de plantas medicinais, algumas variações na Coleção Ativa são comuns. A primeira delas é a formação de coleções heterogêneas, onde há um grande número de espécies pertencentes a várias famílias botânicas. O germoplasma dessas coleções geralmente é obtido durante expedições exploratórias e conservado no campo, em casas-de-vegetação ou em telados, sendo comum sua constituição por um grande número de táxons apenas "potencialmente medicinais" (Grupo I).

A formação de coleções heterogêneas, como a descrita acima, tem menor valor como recurso genético, quando comparada com coleções específicas, uma vez que é comum a manutenção de apenas um ou poucos acessos de cada espécie e, dessa forma, uma variabilidade genética disponível limitada. De modo geral, as informações sobre esses materiais são escassas ou mesmo inexistentes. Por sua vez, estas coleções podem ter um valor elevado como coleções didáticas ou como coleções de trabalho. Nas coleções heterogêneas, por exemplo, mostra-se a variedade da flora medicinal presente em uma cultura, região ou ecossistema, ou apresenta-se a diversidade de espécies medicinais utilizadas pelo sistema de saúde local. Nas coleções de trabalho, são mantidos apenas os materiais de interesse do pesquisador para o desenvolvimento de uma pesquisa (p. ex. espécies promissoras na produção de um metabólito, arquitetura desejável, tolerância a solos ácidos, etc.). Em ambos os casos, são mantidos poucos exemplares de cada táxon, normalmente de apenas uma ou de poucas procedências. Uma combinação dessas coleções também pode ocorrer, onde uma espécie ou um grupo de espécies recebe uma atenção especial dentro de uma coleção heterogênea. Essas coleções também

podem desempenhar um papel importante, apoiando investigações nas áreas de química ou farmacologia, bem como sobre a viabilidade de conservação de sementes por longo prazo ou sobre opções de multiplicação dos acessos, antes que as atividades de coleta de um táxon em particular tenha o seu início.

A Tabela 3 mostra algumas coleções de plantas medicinais mantidas no Brasil em diversas instituições.

**Tabela 3.** Algumas coleções de plantas medicinais no Brasil: instituições onde se encontram, táxons com germoplasma conservado e forma de conservação.

Local da Coleção	Táxons	Conservação
Instituto Agrônomo do Paraná-Iapar (Curitiba-PR)	<i>Pfaffia</i> spp., <i>Maytenus</i> spp.	Coleção no campo
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Cenargen (Brasília-DF)	<i>Mentha</i> spp., <i>Ocimum</i> spp., <i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen	Coleção no campo, <i>in vitro</i> e em câmaras frias (sementes)
Embrapa Amazônia Ocidental (Manaus-AM)	Coleção diversificada de plantas medicinais e aromáticas	Coleção no campo
Embrapa Amazônia Oriental-CPATU (Belém-PA)	<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes, <i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf ex Wardl. Coleção diversificada de plantas medicinais	Coleção no campo
Florestas Rio Doce (Linhares-ES)	<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes	Coleção no campo
Universidade Estadual de São Paulo (Botucatú-SP)	<i>Lippia</i> spp., <i>Ocimum</i> spp.	Coleção no campo
Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas-CPQBA/Unicamp (Paulínia-SP)	<i>Maytenus</i> spp., <i>Artemisia annua</i> L., <i>Mikania</i> spp., <i>Phyllanthus</i> spp., <i>Pfaffia</i> spp., <i>Cordia verbenacea</i> L., <i>Stevia rebaudiana</i> spp.	Coleção no campo
Embrapa Acre (Rio Branco-AC)	<i>Piper hispidinervium</i> C. DC.	Coleção no campo
Embrapa Clima Temperado	<i>Maytenus</i> spp.	Coleção no campo
Universidade Federal do Ceará-UFC (Fortaleza-CE)	<i>Lippia</i> spp., <i>Croton</i> spp., <i>Cymbopogon</i> spp., <i>Mentha</i> spp.	Coleção no campo
Universidade do Norte Fluminense (Rio de Janeiro-RJ)	<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes	Coleção no campo
Embrapa Florestas (Curitiba-PR)	<i>Maytenus</i> spp.	Coleção no campo

## 7. Considerações finais

Pelo apresentado aqui observamos que a pesquisa envolvendo plantas medicinais atinge diversos setores da sociedade, podendo interessar desde ao cidadão comum na utilização da planta *in natura* até à indústria farmacêutica ou aos grandes laboratórios. Essa dinâmica de interesses e utilização é um indicativo da grande complexidade do tema.

Ao compararmos as estratégias adotadas para a coleta de germoplasma do produto “plantas medicinais” com aquelas adotadas para a grande variedade de outros produtos de interesse da pesquisa agrícola tradicional e de recursos genéticos (alguns deles também apresentados neste livro), identificamos, prontamente, algumas características distintivas importantes. A primeira delas diz respeito à grande diversidade taxonômica envolvida, uma vez que a designação “planta medicinal” pode compreender todos os táxons de uma flora, se considerarmos que cada um deles, em maior ou menor grau, pode conter substâncias ativas de interesse. Essa consideração é essencialmente verdadeira, devido à escassez generalizada de informações sobre os constituintes químicos ou de comprovação das ações terapêuticas da grande maioria das espécies. Como abordado anteriormente, apenas cerca de 1% da flora tem sido analisada com esses propósitos, provavelmente ainda não de forma exaustiva. Isso constitui um fato crítico, uma vez que muitos dos recursos ainda não explorados podem até desaparecer antes mesmo de serem identificados, perdendo-se com isso, produtos de possível valor econômico.

Como conseqüência dessa diversidade taxonômica ainda não explorada, surgem também obstáculos de naturezas diversas com respeito ao estabelecimento de estratégias adequadas que visem a coleta e a conservação de germoplasma *ex situ*. Estes obstáculos estão relacionados com as peculiaridades de cada táxon, sejam fisiológicas ou ecológicas. As respostas a esses problemas são naturalmente perseguidas, enfocando cada táxon individualmente no estabelecimento das estratégias acima referidas e não o grupo “plantas medicinais” como um todo. Diante disso, o estabelecimento de critérios mínimos para a seleção de táxons para a coleta de germoplasma, visando sua conservação por longo prazo, tem se tornado inevitável, convergindo em direção a grupos de espécies melhor conhecidas do ponto de vista químico ou farmacológico. A exemplo disso, podem ser citados os trabalhos desenvolvidos no Cenargen com

*Psychotria ipecacuanha* e *Pilocarpus* spp. (Assis 1992, Assis & Giulletti 1999, Eira et al. 1992, Skorupa 1996, Skorupa & Assis 1998, Skorupa et al., no capítulo seguinte), além de outros em andamento com *Pfaffia glomerata*, *Mentha* spp., *Ocimum* spp., *Lychnophora ericoides* e *Stryphnodendron adstringens* (Vieira et al. 2001, 2003).

O avanço das técnicas de isolamento e identificação de compostos químicos de origem vegetal, bem como do emprego de novos procedimentos para testar atividades biológicas diversas de forma simultânea e mais rápida, serão, sem dúvida, os grandes responsáveis pelo aumento da geração de demandas específicas para a conservação de germoplasma *ex situ*. Ao lado disso, o emprego crescente de processos biotecnológicos na produção de fármacos traz uma nova dimensão para o valor das coleções de germoplasma, onde o foco de interesse se reduz à própria célula ou a segmentos específicos de DNA.

Além da preocupação de se estabelecer prioridades para a coleta de germoplasma para a sua conservação *ex situ*, há também uma demanda da comunidade científica quanto ao estabelecimento de prioridades para a pesquisa em plantas medicinais no Brasil. Fundamentalmente, esse esforço tem se dado na identificação da existência de lacunas no conhecimento de diversos táxons, seja do ponto de vista taxonômico, como também da farmacologia, química, ecologia, cadeias produtivas, entre outras, e que devem ser consideradas em proposições de novos projetos de pesquisa. Um dos resultados recentes desse esforço foi a elaboração de uma relação de espécies prioritárias para inclusão em projetos de pesquisa de plantas medicinais, a partir de uma reunião técnica com pesquisadores de diversas instituições (Vieira et al. 2002), representando os diversos biomas brasileiros. O encontro também apontou claramente a importância vital da multidisciplinaridade nesse ramo da pesquisa.

No momento em que observamos a degradação avassaladora da nossa flora, antes mesmo de conhecê-la integralmente do ponto de vista taxonômico, devemos reconhecer a importância do fortalecimento e integração dos grupos de pesquisa e instituições envolvidas nessa área, como a única forma de superar os obstáculos no caminho do conhecimento, uso e conservação desses recursos para as próximas gerações.

## 8. Referências

- ABELSON, P. H. Medicine from plants. **Science**, Washington, DC, v. 247, p. 513, 1989.
- ALHO, C. J. R.; MARTINS, E. S. (Ed.). **De grão em grão, o cerrado perde espaço**: Cerrado - impactos do processo de ocupação. Brasília, WWF: PRÓ-CER, 1995. 66 p.
- ASSIS, M. C. **Aspectos taxonômicos, anatômicos e econômicos da "Ipeca", *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae)**. 1992. 132 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ASSIS, M.C.; GIULIETTI, A.M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de "ipecacuanha" - *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 205-216, 1999.
- BAKER, J.T.; BORRIS, R.P.; CARTÉ, B.; CORDELL, G.A.; SOEJARTO, D.D.; CRAGG, G.M.; GUPTA, M.P.; IWU, M.M.; MADULID, D.R.; TYLER, V.E. Natural product drug discovery and development: new perspectives on international collaboration. **Journal of Natural Products**, Ohio, v. 58, n. 9, p. 1325-1357, 1995.
- BALANDRIN, M. F.; WURTELE, J. A.; WURTELE, E. S. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science**, Washington, DC, v. 228, p. 1154-1160, 1985.
- BARBIERI, J. C. **Desenvolvimento e meio ambiente**: as estratégias de mudanças da Agenda 21. Petrópolis: Vozes, 1997. 156 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, Oxon, UK: Cab International, 1995. p. 75-91.
- CARLINI, E.A. Pesquisas com plantas brasileiras usadas em medicina popular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 29, n. 5-6, p. 109-110, 1983.

CEME. **Estudo de ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras (*Maytenus ilicifolia* "espinheira-santa") e outras.** Brasília, DF: CEME: AFIP, 1988. 87 p.

CRAGG, G.M.; SIMON, J.E.; JATO, J.G.; SNADER, K.M. Drug discovery and development at the National Cancer Institute: potential for new pharmaceutical crops. In: JANICK, J. (Ed.). **Progress in new crops.** Alexandria, VA: ASHS Press, 1996. p. 54-560.

EIRA, M.T.S.; VIEIRA, R.F., MELLO, C.M.C.; FREITAS, R.W.A. Conservação de sementes de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 14, n. 1, p. 37-39, 1992.

ELLIS, R.H., HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 41, p. 1167-1174, 1990.

ELLIS, R.H., HONG, T.D.; ROBERTS, E. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, Oxon, UK, v. 1, p. 69-72, 1991.

ELIZABETSKY, E. Etnofarmacologia de algumas tribos brasileiras. In: RIBEIRO, D. (Ed.). **Suma etnológica brasileira, etnobiologia.** Petrópolis: Vozes, 1987. p. 135-148.

ERWIN, T.L. A copa da floresta tropical: o coração da diversidade biótica. In: WILSON, E.O.; PETER, F. M. (Ed.). **Biodiversidade.** Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 158-165.

FARNSWORTH, N.R. Testando plantas para novos remédios. In: WILSON, E.O.; PETER, F.M. (Ed.). **Biodiversidade.** Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 107-125.

FARNSWORTH, N. R.; MORRIS, R. W. Higher plants – the sleeping giant of drug development. **American Journal of Pharmacy**, Philadelphia, PA, v. 148, p. 46-52, 1976.

FARNSWORTH, N. R.; SOEJARTO, D. D. Potencial consequences of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. **Economic Botany**, Bronx, NY, v. 39, n. 3, p. 231-240, 1985.

FARNSWORTH, N. R.; SOEJARTO, D. D. Global importance of medicinal plants. In: AKERELE, O.; HEYWOOD, V.; SYNGE, H. (Ed.). **The conservation of medicinal plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. p. 25-51.

FARNSWORTH, N. R.; AKERELE, O.; BINGEL, A. S.; SOEJARTO, D.D.; GUO, Z. Medicinal plants in therapy. **Bulletin of the World Health Organization**, New York, NY, v. 63, n. 6, p. 965-981, 1985.

FLÜCK, H. Intrinsic and extrinsic factors affecting the production of natural products. In: SWAIN, T. (Ed.). **Chemical plant taxonomy**. London: Academic Press, 1963. p. 167-185.

GOEDERT, C.O. 1988. Conservação de germoplasma-semente. In: ARAUJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). **Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal, FCAV, 1988. p. 78-95.

GOTTLIEB, O.R.; MORS, W.B. Potential utilization of Brazilian wood extractives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 28, n. 2, p. 196-215, 1980.

HAMANN, O. The joint IUCN-WWF plants conservation programme and its interest in medicinal plants. In: AKERELE, O.; HEYWOOD, V.; SYNGE, H. (Ed.). **The conservation of medicinal plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. p. 13-22.

HARBORNE, J. B. Chemical data in practical taxonomy. In: HEYWOOD, V. H.; MOORE, D. M. (Ed.). **Current concepts in plant taxonomy**. London: Academic Press, 1984. p. 237-261.

HARBORNE, J. B. **Ecological biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1993. 318 p.

IUCN. **Plants in danger**: how do we know? Gland: Switzerland and Cambridge, 1986. 461 p.

KUBITSKI, K. Phytochemistry in plant systematics and evolution. In: HEYWOOD, V. H.; MOORE, D. M. (Ed.). **Current concepts in plant taxonomy**. London: Academic Press, 1996. p. 263-277.

LEWIS, W. H.; ELVIN-LEWIS, M. P. F. Efficaceous plants of the neotropics. **Monographs in systematics botany from the Missouri Botanical Garden**, v. 10, p. 309-314, 1985.

LIVINGSTON, R.; ZAMORA, J. Medicine trees of the tropics. **Unasylya**, Rome, v. 35, n. 140, p. 7-10, 1983.

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.

MALONE, M. H. The pharmacological evaluation of natural products: general and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 8, p. 127-147, 1983.

McLAUGHLIN, J.L.; CHANG, C.J.; SMITH, D.L. "Bench-top" bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. **Studies in natural products chemistry**, v. 9, p. 383-409, 1991.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. Flora vascular do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 289-556.

MONTANARI, C.A.; BOLZANI, V.S.. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

MORALES, E.A.V. Documentação e informática de recursos genéticos. In: ARAUJO, S.M.C.; OSUNA, J.A. (Ed.). **Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal, FCAV, 1988. p. 135-147.

PEIGEN, X. Recent development on medicinal plants in China. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 7, n. 95, p. 109, 1983.

PINHEIRO, C.U.B. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae) a wild species and its rapid transformation into a crop. **Economic Botany**, Bronx, NY, v. 51, n. 1, p. 49-58, 1997.

PRANCE, G. T. Floristic inventory of the tropics: where do we stand? **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 64, p. 659-684, 1977.

RIVIER, L.; SOEJARTO, D. D. Intellectual property rights, naturally derived bioactive compounds and resource conservation. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 51, n. 1-3, p. 1-336, 1996.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, p. 449-513, 1973.

ROUHI, A.M. Seeking drugs in natural products. **Chemical and Engineering News**, Washington, DC, v. 75, p. 14-29, 1997.

SCHULTES, R. E. The reason for ethnobotanical conservation. In: AKERELE, O.; HEYWOOD, V.; SYNGE, H. (Ed.). **The conservation of medicinal plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. p. 65-75.

SKORUPA, L. A. **Revisão taxonômica de *Pilocarpus Vahl* (Rutaceae)**. 1996. 426 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo.

SKORUPA, L. A.; ASSIS, M. C. Collecting and conserving Ipecac (*Psychotria ipecacuanha*, Rubiaceae) germplasm in Brazil. **Economic Botany**, Bronx, NY, v. 52, n. 2, p. 209-210, 1998.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit-sharing: perspectives from the field. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 51, p. 1-15, 1996.

SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R. Tropical rain forest: potencial source of new drugs? **Perspectives in Biology and Medicine**, Chicago, IL, v. 32, p. 244-256, 1989.

SOUZA, E.L.S. Conservação de germoplasma *in vitro*. In: ARAUJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). **Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal, FCAV, 1988. p. 102-105.

VALLS, J.F.M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ARAUJO, S. M. C.; OSUNA, J. A. (Ed.). **Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal, FCAV, 1988. p. 106-128.

VENCOVSKY, R. **Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1986. 15 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Boletim de Pesquisa, 1).

VIEIRA, R. F. Importância da variabilidade genética na produção de metabólitos secundários In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. (Org.).

**Tópicos atuais em botânica.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Sociedade Botânica do Brasil, 2000. p. 304-307. Apresentado no 51º Congresso Nacional de Botânica.

VIEIRA, R. F.; SKORUPA, L. A. Brazilian medicinal plants gene bank. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 330, p. 51-58, 1993.

VIEIRA, R. F., GRAYER, R.; PATON, A.; SIMON, J. E. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, UK, v. 29, n. 3, p. 287-304, 2001.

VIEIRA, R. F.; SILVA, S. R.; ALVES, R. de B. das N.; SILVA, D. B. da; DIAS, T. A. B.; WETZEL, M. M. V. da S.; UDRY, M. C.; MARTINS, R. C. (Ed.). **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas:** resultados da 1. reunião técnica. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: IBAMA, 2002.

VIEIRA, R. F., GOLDSBROUGH, P.; SIMON, J. E. Genetic diversity of basil (*Ocimum* spp.) based on RAPD Markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v. 128, n. 1, p. 94-99, 2003.

WILSON, E.O. A situação atual da diversidade biológica. In: WILSON, E. O.; PETER, F. M. (Ed.). **Biodiversidade.** Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 3-24.