

DANIELI ALINE CIGOLINI RUZZA

**ETNOBOTÂNICA, BIOLOGIA REPRODUTIVA E
DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Genipa americana*
L. (RUBIACEAE) VISANDO A CONSERVAÇÃO E
MANEJO SUSTENTÁVEL DA ESPÉCIE**

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2017

	DANIELI ALINE CIGOLINI RUZZA	Diss. MESTRADO	PPGBioAgro 2017



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E
AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS
AMAZÔNICOS**



DANIELI ALINE CIGOLINI RUZZA

**ETNOBOTÂNICA, BIOLOGIA REPRODUTIVA E
DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Genipa americana*
L. (RUBIACEAE) VISANDO A CONSERVAÇÃO E
MANEJO SUSTENTÁVEL DA ESPÉCIE**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi
Coorientador: Prof. Dr. José Martins Fernandes
Coorientadora: Profa. Dra. Kellen Coutinho Martins

ALTA FLORESTA-MT

2017

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

RUZZA, Danieli Aline Cigolini

Etnobotânica, biologia reprodutiva e diversidade genética em *Genipa americana* L. (Rubiaceae) visando a conservação e manejo sustentável da espécie/ Danieli Aline Cigolini Ruzza.– Alta Floresta-MT, 2017.

**f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos. Área de Concentração: Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos) – Universidade do Estado de Mato Grosso, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias.

Orientação: Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi.

Coorientação: Prof. Dr. José Martins Fernandes.

Coorientação: Profa. Dra. Kellen Coutinho Martins.

1. Jenipapeiro. 2. Conhecimento Popular. 3. Conservação. I. Título.

CDD ***

**ETNOBOTÂNICA, BIOLOGIA REPRODUTIVA E
DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Genipa americana*
L. (RUBIACEAE) VISANDO A CONSERVAÇÃO E
MANEJO SUSTENTÁVEL DA ESPÉCIE**

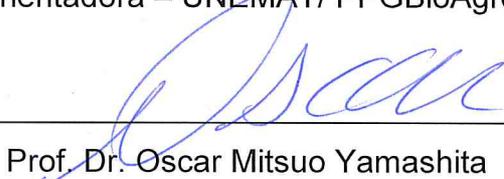
Danieli Aline Cigolini Ruzza

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

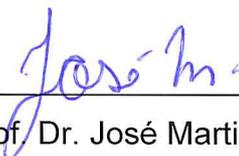
Aprovada em: 15/02/2017



Profa. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi
Orientadora – UNEMAT/ PPGBioAgro


Prof. Dr. Oscar Mitsuo Yamashita

UNEMAT/ PPGBioAgro


Prof. Dr. José Martins Fernandes

Coorientador – UNEMAT


Profa. Dra. Eulalia Soler Sobreira Hoogerheide

EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus professores, eternos mestres. Aos meus pais e avó, meus alicerces. Ao meu namorado, meu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, quem busquei e pedi sabedoria...

À Universidade do Estado de Mato Grosso, pela oportunidade de estudo e disposição do campus e profissionais que muito contribuiu para realização desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) que financiou minha bolsa me permitindo a dedicação exclusiva ao trabalho.

Agradeço a minha orientadora, Prof^a. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi: uma mãe, que ama e se preocupada com seus filhos. Que sempre auxiliou e buscou formas de solucionar qualquer adversidade que fosse. Que me recebeu de braços abertos e me ensinou sua humildade. Aos meus coorientadores Prof. Dr. José Martins Fernandes e Prof^a. Dra. Kellen Coutinho Martins, e também ao Prof. Dr. Sérgio Alessandro Machado de Souza por esclarecerem as inúmeras dúvidas.

Sou grata a querida Rosimeire Barboza Bispo (Meire), que foi meu braço direito e sempre celebrou os nossos resultados. Aos meus nobres colegas-amigos de laboratório. Todos, sem exceção, foram cruciais na realização do meu trabalho... obrigada por me fazer rir sempre. Sou grata Eliane Moreno e Auana Vicente Tiago por toda a ajuda!

As amigas Lucirene Rodrigues, Marraiane Ana da Silva, Aureane Ferreira, Letícia Queiroz, Kátia Schmitt, Jakeline Cochev e Kelli Muller Zortéa por todas as conversas e ajuda.

Ao grande amigo de sempre Carmino Emídio Junior: IRMÃO.

Sou grata a minha família (pai, mãe, irmãos Daniel e Bruno, e a vovó Elda) e ao meu namorado, Gêisson, que sempre estiveram comigo me dando o que tem de melhor: companhia e amor.

A todos: Obrigada!

“É interessante contemplar um riacho luxuriante, atapetado com numerosas plantas pertencentes a numerosas espécies, abrigando aves que cantam nos ramos, insetos variados que voitam aqui e ali, vermes que rastejam na terra úmida, se se pensar que estas formas tão admiravelmente construídas, tão diferentemente conformadas, e dependentes umas das outras de uma maneira tão complexa, têm sido todas produzidas por leis que atuam em volta de nós.”

Charles Darwin

SUMARIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE SIGLAS	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
3. CAPÍTULOS	10
3.1. ESTUDO ETNOBOTÂNICO DO JENIPAPO (<i>Genipa americana</i> L., RUBIACEAE) EM COMUNIDADES RURAIS NO MUNICÍPIO DE CARLINDA, MATO GROSSO, BRASIL	10
Resumo.....	11
Abstract.....	11
Introdução	13
Materiais e Métodos	16
Resultados	21
Discussão.....	29
Conclusão	36
Referências	37
3.2. ANÁLISE MEIÓTICA, CARACTERIZAÇÃO E VIABILIDADE POLÍNICA DE <i>Genipa americana</i> L.	44
Resumo.....	45
Abstract.....	45
Introdução	46
Material e Métodos.....	49
Resultados	55
Discussão.....	60
Conclusão	63
Referências Bibliográficas.....	64

3.3. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE <i>Genipa americana</i> L. NO NORTE DE MATO GROSSO, BRASIL.....	70
Resumo.....	71
Abstract.....	71
Introdução.....	72
Material e Métodos.....	74
Resultados.....	79
Discussão.....	86
Conclusão.....	89
Referências.....	90
4. Conclusões Gerais.....	94
ANEXO A.....	95

LISTA DE TABELAS

TABELAS	Página
CAPÍTULO 1	
1. Categorias e tipos de usos do jenipapo (<i>G. americana</i>) entre agricultores no município de Carlinda - MT	27
2. Concordância dos usos citados (CUCs) do jenipapo, Fator de correlação (FC), e porcentagem corrigida de concordância dos usos citados por agricultores de Carlinda – MT. NICUC – nº de informantes que citou uso da categoria; NICUP – nº de informantes citando usos principais; CUP – índice de concordância de uso principal; e CUPc – CUP corrigido	28
CAPÍTULO 2	
1. Classificação dos grãos de pólen com base na razão P/E, segundo Erdtman (1952)	53
2. Classificação dos grãos de pólen em relação ao índice de área polar (IAP)	53
3. Medidas dos pólenes de <i>Genipa americana</i> L	55
4. Quiasmas observados em <i>G. americana</i> e cálculo do Índice de Recombinação	57
5. Porcentagem de anormalidades observadas na meiose de <i>G. americana</i>	57
6. Produtos pós-meióticos de <i>G. americana</i> observados em lâminas com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 40x	58
7. Percentual médio de viabilidade dos pólenes de <i>G. americana</i> resultante dos testes colorimétricos	59
CAPÍTULO 3	
1. Primers SSR desenvolvidos por Manoel et al. (2014) selecionados para análise de diversidade genética de <i>G. americana</i>	77

2.	Número de alelos (N_a), Diversidade Gênica (D_g), Heterozigosidade esperada (H_e), Heterozigosidade observada (H_o) e Conteúdo de Informação polimórfico (PIC) para os seis primers SSR, com base na amplificação de 64 indivíduos de <i>G.americana</i> das três populações amostradas no Norte de Mato Grosso, Brasil	79
3.	Comparação da diversidade genética entre as três populações de <i>G. americana</i> estudadas via índice de diversidade gênica de Nei (H). Diversidade Gênica (D_g), Heterozigosidade esperada (H_e), Heterozigosidade observada (H_o), Índice de fixação (f) e Conteúdo de informação polimórfica (PIC).....	80
4.	Análise molecular da variância (AMOVA) nas três populações naturais de <i>G. americana</i> , localizadas no norte do estado de Mato Grosso estudadas a partir de seis marcadores SSR	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Página
CAPÍTULO 1	
1. Município de Carlinda, localizado ao Norte do estado de Mato Grosso, Brasil. A – Estado de Mato Grosso no Centro-oeste do Brasil. B – Município de Carlinda, no Norte de Mato Grosso. C – Limites do município de Carlinda.....	17
2. Realização de entrevistas etnobotânicas e apresentação de fotos do jenipapeiro utilizadas para esclarecimento sobre a espécie de estudo. A - Folhas; B – Flores; C – Frutos de jenipapo apresentadas aos entrevistados para confirmação da espécie de estudo. D – coleta de material fértil para montagem de exsicatas. E e F entrevista com alguns moradores de comunidades rurais do município de Carlinda, MT. Fonte: Ruzza, 2017	20
3. A - Faixa etária; B - Nível de escolaridade; C – Estado civil; D – Atuação profissional dos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT	22
4. Regiões de origem dos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT	22
5. Produção desenvolvida pelos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT	23
6. Respostas citadas pelos conhecedores populares de <i>G. americana</i> entrevistados no município de Carlinda – MT. A – Característica de reconhecimento do jenipapo; B – Como aprenderam a reconhecer a espécie	23
7. Estruturas diagnósticas de <i>Genipa americana</i> : A) Folha; B) Estípula; C) Inflorescência; D) Flor masculina; E) Corte em flor masculina; F) Flor feminina; G) Corte em flor feminina; H) Fruto. Imagem: Reginaldo Pinto.....	26

CAPÍTULO 2

1. Locais de coleta de *G. americana*, nos quais foram coletados as flores e os botões florais, no município de Alta Floresta e Matupá, Mato Grosso, Brasil, 2015. A – O estado de Mato Grosso, B – O município de Alta Floresta, MT e C – O município de Matupá, MT..... 50
2. Botões e flores de *Genipa americana*. A – Botões florais de indivíduo masculino em diferentes estádios de desenvolvimento; B – Anteras e estigma; C – Flores masculinas de *G. americana*. Fonte: Ruzza, 2017..... 51
3. Fotomicrografias dos grãos de pólen de *G. americana*. A) Vista polar mostrando os colpos; B) Vista equatorial; C) Detalhe da superfície. Barra= 10µm..... 55
4. Meiose em *Genipa americana* L. **A** - Diacinese apresentando 11 pares cromossômicos, observando-se 10 bivalentes em configuração meiótica do tipo anel e um bivalente em bastão (seta). **B** – Metáfase I evidenciando um cromossomo se separando precocemente (seta). **C** – Metáfase I evidenciando as fibras do fuso (seta). **D** – Anáfase I apresentando dois cromossomos retardatários (seta). **E** – Final da telófase I e início da metáfase II, evidenciando um cromossomo se afastando precocemente (seta). **F-G** – Anáfase II apresentado cromossomos retardatários e falta de sincronia na célula (seta). **H** – Anáfase II com um cromossomo retardatário (seta). **I** - Anáfase II evidenciando falta de sincronia na célula. **J** – Falta de sincronia na divisão celular. **K** – Desuniformidade da placa equatorial metafásica. **L** – Segregação irregular dos cromossomos. **M** – Mônade. **N** – Tríade. **O** – Tétrade normal. **P** – Grão de pólen viável (escuros= púrpura) e inviáveis (claro = verde). Barra (A-D e F-O) = 20 µm; Barra (E) = 10 µm; Barra (P) = 50 µm..... 56

5. Testes colorimétricos com grãos de pólen de <i>G. americana</i> . A- Sudan IV. B- Carmim acético. C- Alexander. D - Lugol. Barra = 50 µm. * Pólen inviável; ** Pólen viável	59
--	----

CAPÍTULO 3

1. Localização geográfica das três populações de <i>G. americana</i> amostradas para este estudo nos municípios de Alta Floresta, Matupá e Nova Bandeirantes no estado de Mato Grosso, Brasil.....	74
2. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos da população AFL de <i>A. americana</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base distância genética de Nei, por meio de marcadores SSR.....	81
3. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos da população MTP de <i>A. americana</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base distância genética de Nei, por meio de marcadores SSR.....	82
4. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos da população NBD de <i>A. americana</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base distância genética de Nei, por meio de marcadores SSR.....	83
5. Dispersão gráfica a partir da análise das coordenadas principais dos 64 indivíduos de <i>G. americana</i> provenientes das três populações AFL, MTP e NDB amostradas no norte de Mato Grosso).....	84
6. Representação da distribuição dos 64 indivíduos de <i>G. americana</i> em grupos segundo dados moleculares de 6 primers SSR, utilizando o programa “Structure”. Os indivíduos estão representados por barras verticais com colorações de acordo com o grupo ao qual pertencem (cinco grupos, K = 5).....	85

LISTA DE SIGLAS

CA Casca da Árvore

CF Casca do Fruto [pericarpo]

cm Centímetro

CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CUCs Concordância de Usos Citados

CUP índice de concordância de uso principal

CUPc índice de concordância de uso principal corrigido

DNA Ácido Desoxirribonucleico

F Folha

FC Fator de Correlação

FR Fruto

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HERBAM Herbário da Amazônia Meridional

IAP Índice de Área Polar

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IM Índice Meiótico

INCRA Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária

IR Índice de Recombinação

m Metro

MD Madeira.

min Minuto

ml Mililitro

mm Milímetro

NICUC Número de informantes que citou uso da categoria

NICUP Número de informantes citando usos principais

°C Temperatura em Graus Celsius

PPGBioAGRO Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos

PRPPG Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação

rpm Rotação por minutos

UNEMAT Universidade do Estado de Mato Grosso

µm Micrometro

RESUMO

RUZZA, Danieli Aline Cigolini. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2017. **Etnobotânica, biologia reprodutiva e diversidade genética em *Genipa americana* L. visando a conservação e manejo sustentável da espécie.** Orientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi. Coorientadores: José Martins Fernandes e Kellen Coutinho Martins.

Genipa americana L. (Rubiaceae), popularmente conhecida como Jenipapo, é uma espécie dioica funcional, com 11 pares cromossômicos ($2n=2x=22$), utilizada na produção de doces e licores e na medicina popular, recomendada também para reflorestamentos heterogêneos. Por seus compostos químicos, característicos da família Rubiaceae, a espécie é também muito importante na indústria alimentícia e farmacológica. Por fatores relacionados à fragmentação florestal, espécies nativas como *G. americana* correm risco de perda de diversidade genética. Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de conhecer as formas de utilização popular da espécie na região, estudar alguns de seus aspectos reprodutivos e avaliar a estrutura populacional e diversidade genética utilizando marcadores moleculares, gerando, assim, conhecimentos úteis para aplicação em estratégias de conservação e melhoramento da espécie. Para conhecimento dos usos populares foram realizadas entrevistas etnobotânicas com moradores de comunidades rurais de Carlinda, MT. Foi utilizada a metodologia “Bola-de-Neve”. Vinte pessoas participaram da pesquisa e contribuíram para a mesma mediante a exposição das formas de utilização praticadas no município e em seus estados de origem, totalizando 51 citações. Foram descritas 30 formas de uso, classificadas em 4 categorias: medicinal (24), alimentar (17), tecnológica (8) e outros (2). Para avaliar os pólenes de *G. americana*, botões florais foram coletados nos municípios de Alta Floresta e Matupá, Mato Grosso. Técnica de acetólise, testes colorimétricos e análise em microscópio óptico foram empregados. Os pólenes são médios, tricolporados e com exina reticulada. Houve poucas irregularidades meióticas e o maior percentual médio de viabilidade polínica foi obtido com carmim acético (97,96%) e o menor, com o Reativo de Alexander (81,52%). Para avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional de três populações naturais de *G. americana* foram utilizados seis primers SSR desenvolvidos para a espécie. A extração de DNA foi realizada pelo método CTAB com modificações. As análises de agrupamento revelaram uma não estruturação geográfica da diversidade genética. A maior parte da variabilidade genética foi encontrada dentro das populações do que entre as populações. As principais formas de utilização do jenipapeiro são a medicina popular e a culinária, as quais não põem em risco a diversidade genética da espécie. Os pólenes de *G. americana* têm exina reticulada e são médios, oblato-esferoidal e tricolporados. Há alta viabilidade polínica e a meiose é regular. Os genótipos das populações apresentam diversidade genética, sendo maior dentro das populações do que

entre as populações. As três populações apresentam alta diversidade genética. Foi encontrada baixa heterozigosidade. Propõe-se que os fragmentos com ocorrência de indivíduos de *G. americana* sejam mantidos e que áreas degradadas sejam recuperadas para manutenção da diversidade genética e para possibilitar maiores chances de sucesso na reprodução da espécie, reduzindo a exposição da espécie a deriva genética, redução do fluxo gênico e endogamia.

Palavras-chave: Jenipapo, Conhecimento Popular, Conservação.

ABSTRACT

RUZZA, Danieli Aline Cigolini. M.Sc. University of Mato Grosso State, February 2017. **Ethnobotany, reproductive biology and genetic diversity in *Genipa americana* L. aiming at the conservation and sustainable management of the species.** Advisor: Ana Aparecida Bandini Rossi. Co-advisors: José Martins Fernandes e Kellen Coutinho Martins.

Genipa americana L. (Rubiaceae), popularly known as Jenipapo, is a functional dioecious species, with 11 chromosome pairs ($2n=2x=22$), used in the production of sweets and liqueurs and in folk medicine, also recommended to heterogeneous reforestation. Due to its chemical compounds, which are characteristic of Rubiaceae family, this species is also very important in food and pharmacological industry. Due to factor related to forest fragmentation, native species such as *G. americana* may face risk of genetic diversity loss. This work was developed with the purpose of knowing the popular uses of the species in the region; studying some of its reproductive aspects and to evaluate population structure and genetic diversity using molecular markers, thus generating useful knowledge for application in conservation strategies and species improvement. For the knowledge of popular uses, ethnobotanical interviews with rural communities residents of Carlinda, MT were performed. The "Snow Ball" methodology was used. Twenty people participated of study and contributed by means of presenting the using way practiced in the municipality and in their original state, totalizing 51 citations. Thirty uses were described, which were classified into 4 categories: medicinal (24), food (17), technology (8) and others (2). To evaluate the *G. americana* pollens, flower buds were collected in Alta Floresta and Matupá municipalities, Mato Grosso State. Acetolysis technique, colorimetric tests and optical microscope analysis were used. The pollen grains are medium size, tricolporate and have cross-linked exine. There were few meiotic irregularities and the highest percentage of pollen viability was obtained with acetic carmine (97.96%) and the lowest was obtained with Alexander reactive (81.52%). To evaluate the genetic diversity and the population structure of three natural populations of *G. americana*, six SSR primers developed to the species were used. The DNA extraction was performed by the CTAB methods, with some modifications. The cluster analyses revealed the absence of a geographic structure of genetic diversity. Most of the genetic variability was found within populations rather than between populations. The main ways of using 'jenipapeiro' are folk medicine and cooking, which do not endanger the genetic diversity of the species. *G. americana* pollens have crosslinked exina and are medium, oblate-spheroidal and tricolporate. There is high pollen viability and meiosis is regular. The population genotypes present genetic diversity, being larger within the populations than among the populations. Low heterozygosity was found. It is proposed here that the fragments with occurrence of *G. americana* individuals

are kept and that degraded areas are recovered for the maintenance of genetic diversity and to allow greater chances of success in the reproduction of the species, thereby reducing the exposure to genetic drift, reduction of gene flow and inbreeding.

Key-word: Jenipapo, Popular Knowledge, conservation.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os fragmentos florestais formados por ações antrópicas, como o avanço urbano, expansão agrícola, pecuária, e ainda o extrativismo, preocupam pesquisadores devido a perda de diversidade de espécies e redução do fluxo gênico. A perda de espécies pode ocorrer por efeito de borda; perturbações nas florestas, como árvores derrubadas, alterações nos cursos d'água, caças a animais, entrada de fogo e fumaça; redução na migração e no tamanho das populações (TURNER, 1996). Em fragmentos é observada a predominância de espécies pioneiras e secundárias, com redução ou ausência de espécies tardias e zoocóricas (CASCANTE et al., 2002; BERNACCI et al., 2006).

A região norte do estado de Mato Grosso passa por processo de crescimento urbano, agrícola e pecuário, resultante do processo de ocupação da região que se deu por volta da década de 1970, com incentivos do governo que focaram a implantação da agricultura. Migraram para o norte de Mato Grosso, famílias de todas as regiões do Brasil, mas principalmente as famílias do sul e sudeste, que passavam por forte processo de urbanização, com redução no setor rural, vindo para esta região pessoas com interesse e técnica para a agricultura e pecuária (ROSA et al., 2003; CUNHA, 2006; SELUCHINESK, 2008; GASQUES et al., 2015), justificando as principais atividades econômicas do estado.

Diante disso, há necessidade de criação de soluções para a conservação da diversidade e que reduzam os impactos ambientais (BRANDÃO et al., 2006; RIVERO et al., 2009), mas que sejam viáveis economicamente. Dentro deste cenário, está a espécie alvo do estudo, *Genipa americana* L., de ocorrência na América central e América do Sul (LORENZI e MATOS, 2002), nativa na floresta amazônica.

Genipa americana L., popularmente conhecida como Jenipapo, (LORENZI, 2000), pertence à família Rubiaceae, composta por cerca de 12.000 espécies, em 650 gêneros, classificada como uma das maiores famílias de dicotiledôneas, ocupando o quarto lugar em diversidade (YOUNG et al., 1996;

MABBERLEY, 1997; MENDONÇA et al., 2013). Apresenta ampla distribuição no Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica (CHIQUIERI et al., 2003). Mas Andrade et al. (2015) chamam a atenção para a perda de espécies da família Rubiaceae devido a fragmentação das florestas. Citadini-Zanette et al. (2009), constataram a importância de espécies de rubiaceas pioneiras e secundárias no processo de regeneração natural preparando o ambiente para estabelecimento de novas espécies.

Conforme Mendonça (2013), as espécies de Rubiaceae apresentam alcaloides que são importantes na elucidação de efeitos farmacológicos, sendo essa família muito importante para a obtenção destes compostos. *G. americana* possui diversos compostos químicos (iridoides e compostos fenólicos), sendo um deles a genipina, que é obtida com o fruto verde e é responsável pela coloração azul do fruto, com a oxidação (BENTES et al., 2015; BENTES e MERCADANTE, 2014), do qual resulta a tintura utilizada por indígenas para pintura do corpo (JESUS et al., 2015). Além disso, *G. americana* é indicado na medicina popular e culinária, em construções civis e fabricação moveleira, e forragem para animais como bovinos, caprinos e suínos (GOMES, 1983; CARVALHO, 2003; OLIVEIRA, 2011).

A espécie tem antese diurna e é caracterizada por apresentar 11 pares cromossômicos ($2n=2x=22$) (GURGEL GARRIDO et al., 1997; PIEROZZI e MENDACOLLI, 1997). *G. americana* apresenta dioicia funcional, suas folhas são opostas, simples, oblongas-obovadas, coriáceas, curto-pecioladas, com duas estípulas interpeciolares e inserção oposta; as flores são campanuladas de corola branca a amarela, suavemente aromática, de 1,8cm a 4cm de comprimento, disposta em dicásio axilar, paucifloro ou solitário; fruto anfisarcídeo, ovoides, indeiscente, cor amarelo-alaranjado, de 9 a 15cm de comprimento e 6,5 a 8,5cm de diâmetro, pesando de 200g a 400g, com epicarpo pardo e aroma característico levemente fermentado (CARVALHO, 2003; SOUZA e LORENZI, 2008).

G. americana é importante tanto por suas características como espécie florestal, quanto pela utilização dos seus frutos na produção de alimentos e na medicina popular. É recomendada também para

reflorestamentos heterogêneos em áreas brejosas e à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente, pois fornece abundante alimento para a fauna. É uma espécie que necessita ser estudada, partindo do conhecimento popular, visando sua implantação para elaboração de estratégias de conservação.

A área da ciência que estuda o saber popular com relação a flora é denominado etnobotânica, que permite conhecer as formas de utilização de plantas por populações tradicionais e não tradicionais e também o ciclo da planta (BALDAUF e HANAZAKI, 2007; CARNIELLO et al., 2010; CUNHA e BORTOLOTTI, 2011). As comunidades tradicionais são procuradas devido a forte dependência dos recursos naturais, além do simbolismo e crenças que envolvem o uso desses recursos (PEREIRA e DIEGUES, 2010).

Realizar pesquisas etnobotânicas é uma maneira de promover a divulgação das potencialidades da espécie, já que hábitos tradicionais de cultivo vão sendo esquecidos ao longo das gerações com a modernização e facilidade de obtenção de alimentos e remédios no comércio (AMBROSIO et al., 1996; SIVIERO et al., 2011).

Os estudos etnobotânicos podem fornecer subsídio para implantação da educação ambiental, incentivando o cultivo de plantas pela população, como apontado por Perna e Lamano-Ferreira (2014) em revisão bibliográfica sobre plantas medicinais nos quintais urbanos; podem também estimular a conservação de espécies nativas, devido aos sistemas de manejo desenvolvidos ao longo do tempo por conhecedores populares das comunidades tradicionais (PEREIRA e DIEGUES, 2010).

Outro fator que pode interferir na distribuição de espécies, além das formas de uso, é a viabilidade polínica que pode estar relacionada a formação dos gametófitos masculinos (polens) durante a meiose (MASCARENHAS, 1992; HORNER E PALMER, 1995). Testes colorimétricos com os corantes reativo de Alexander, carmim acético, lugol, e o sudan IV, são indicados para análise da constituição e integridade celular (DAFNI, 1992; EINHARDT et al, 2006; MUNHOZ et al., 2008).

A pouca disponibilidade de polens viáveis pode resultar na menor produção de frutos, conseqüentemente, menor produção de sementes (NASCIMENTO et al., 2011) e no caso de *G. americana*, que foi caracterizada por Salomão e Allen (2001) como apomítica, a pouca disponibilidade de polens, somada a baixa reprodução cruzada por redução de polinizadores (GIANNINI et al., 2012), pode resultar em uma diminuição na diversidade genética da espécie.

Muitos métodos têm sido utilizados para estimar a diversidade genética e entre eles estão os marcadores moleculares (GRIFFITHS et al., 2013). Os marcadores moleculares, diferentemente dos marcadores morfoagronômicos não são mutáveis às alterações ambientais, e são divididos entre marcadores dominantes e marcadores co-dominantes.

O marcador co-dominante SSR (Simple Sequence-Repeat), conhecido também como microssatélite, se destaca por gerar elevada informação genética utilizada em avaliações de diversidade genômica. Coutinho et al. (2014) concluíram em estudo com algodão, que o SSR é um método mais minucioso para descrever a diversidade genética. Os microssatélites estão em grande número no genoma, e estão presentes tanto nas regiões codificadas como nas regiões não codificadas do genoma (KALIA et al., 2011), sendo este método mais seguro para estimar a diversidade genética, que pode ser afetada pela fragmentação.

Desta forma, os objetivos deste trabalho são identificar os usos populares de jenipapo na região norte do estado de Mato Grosso a partir de pesquisa etnobotânica, bem como avaliar aspectos reprodutivos e estrutura genética populacional, visando inferir sobre o efeito da fragmentação florestal na manutenção e distribuição da espécie.

Este trabalho está dividido em três capítulos: Sendo o primeiro capítulo sobre a etnobotânica de *G. americana*, com entrevistas semiestruturadas. O segundo sobre aspectos reprodutivos, com avaliação da meiose, viabilidade polínica e descrição do grão de pólen de *G. americana*. O

terceiro capítulo é sobre a diversidade e estrutura genética, utilizando marcador molecular SSR.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRÓSIO, L.A.; PERES, F.C.; SALGADO, J.M. Diagnóstico da contribuição dos produtos do quintal na alimentação das famílias rurais: microbacia d'água, F. Vera Cruz. **Informações Econômicas**, v.26, n.7, p. 27-39, 1996.

ANDRADE, E. R.; JARDIM, J.G.; SANTOS, B. A.; MELO, F. P. L.; TALORA, D. C.; FARIA, D.; CAZETTA, E. Effects of habitat loss on taxonomic and phylogenetic diversity of undertory Rubiaceae in Atlantic forest landscapes. **Forest Ecology and Management**, v.349, p. 73-84, 2015.

BALDAUF, C.; HANAZAKI, N.; REIS, M. S. Caracterização etnobotânica dos sistemas de manejo de samambaia-preta (*Rumohra adiantiformis* (G.Forst) Ching - Dryopteridaceae) utilizados no sul do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 21, p. 823-834, 2007.

BENTES, A. de S.; SOUZA, H. A. L. de; AMAYA-FARFAN, J.; LOPES, A. S.; FARIA, L. J. G. Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n.6, p. 3919–3924, 2015.

BENTES, A. S.; MERCADANTE, A. Z. Influence of the stage of ripeness on the composition of Iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa americana* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 10800–10808, 2014.

BERNACCI, L. C.; FRANCO, G. A. D. C.; ÀRBOCZ, G. F.; CATHARINO, E. L. M.; DURIGAN, G.; METZGER, J. P. O efeito da fragmentação florestal na composição e riqueza de árvores na região da Reserva Morro Grande (Planalto de Ibiúna, SP). **Revista do Instituto Florestal**, v. 18, n. 1, 121-166, 2006.

BRANDÃO, A.S.P.; REZENDE, G. C.; MARQUES, R.W.C. Crescimento agrícola no período 1999/2004: a explosão da soja e da pecuária bovina e seu impacto sobre o meio ambiente. **Economia Aplicada**, v.10, n.2, p. 249-266, 2006.

CARNIELLO, M.A.; SILVA, R. S.; CRUZ, M. A. B.; GUARIM NETO, G. Quintais urbanos de Mirassol D'Oeste-MT, Brasil: uma abordagem etnobotânica. **Acta Amazônica**, v.40, n.3, p. 451-470. 2010.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**: Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, vol. 1. Brasília, DF: Embrapa informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1.039 p.

CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, J. A.; FUCHS, E. J. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree, *Samanea saman*. **Conservation Biology**, v. 16, 137-147, 2002.

CHIQUIERI, A.; DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na Flora Brasiliensis de Martius. **Rodriguésia**, v. 54, n. 84, p.47-57,2003.

CITADINI-ZANETTE, V.; DELFINO, R. F.; FIGUEIRÓ, A. C. B.; SANTOS, R. Rubiaceae na recuperação ambiental no sul de santa catarina. **Revista de estudos ambientais**, v.11, n. 1, p. 71-82, 2009.

COUTINHO, T. C.; GUIMARÃES, M. de A; VIDAL, M. S. Determinação da diversidade genética entre acessos de algodão por meio de marcadores microsatélites. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, p. 1447-1458, 2014.

CUNHA, J. M. P da. Dinâmica migratória e o processo de ocupação do Centro-Oeste brasileiro: o caso de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Estudos de População**, v. 23, n. 1, p. 87-107, 2006.

CUNHA, S. A.; BORTOLOTTI, I. M. Etnobotânica de plantas medicinais no assentamento Monjolinho, município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 25, n. 3, p. 685-698, 2011.

DAFNI, A. **Pollination ecology**: a practical approach. Oxford University Press Inc. New York, 1ª. Ed., 250p., 1992.

EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. B. Comparação entre métodos para Testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 5-7, 2006.

GASQUES, A. P.; MAGALHÃES, C. L.; RAULINO, E. W. H. As origens de Carlinda: do sonho do projeto de colonização para os projetos de assentamento da reforma agrária. **MTFAF- Mostra de trabalhos acadêmicos**, v.1, n.3, p. 109-113, 2015.

GIANNINI, T. C.; ACOSTA, A. L.; GARÓFALO, C. A.; SARAIVA, A. M.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Pollination services at risk: bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. **Ecological Modelling**, v. 244, p.127-131, 2012.

GOMES, R.P. **Fruticultura brasileira**. 9ª ed. São Paulo: Nobel, p.278-281, 1983.

GRIFFITHS, A. J. F.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B.; WESSLER, S. R. **Introdução à Genética**. Guanabara Koogan, 10ª ed., 2013. 736p.

GURGEL GARRIDO, L. M. DO A.; SIQUEIRA, A. C. M. DE F.; CRUZ, S. F.; ROMANELU, R. C.; ETIORI, L. DE C.; CRESTANA, C. DE S. M.; SILVA, A. A. DA; MORAIS, E.; ZANATIO, A. C. S.; SATO, A. S. Programa de melhoramento genético florestal do Instituto Florestal (acervo). **Instituto Florestal – Série Registros**, n. 18, p.1-53, 1997.

HORNER, H. T.; PALMER, R. G. Mechanisms of genetic male sterility. **Crop Science**, v. 35, p. 1527-1535, 1995.

JESUS, Y. L.; LOPES, E. T.; COSTA, E. V. Descobrimos as ciências na cultura indígena: pinturas corporais. **Revista Curiá: múltiplos saberes**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2015.

KALIA, R. K.; RAÍ, M. K.; KALIA, S.; DHAWAN, A. K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, p. 309-334, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. v.1, 3 ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 384 p., 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F.J. de A. **Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512 p. 2002.

MASCARENHAS, J. P. Pollen gene expression: Molecular evidence. **International Review of Cytology**, v.140, p. 3-18, 1992.

MABBERLEY, D. J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. Cambridge University Press, Cambridge. 240 p. 1997.

MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P.; SEIXAS, E. N. C.; SANTOS, M. A. F. Rubiaceae: aspectos ecológicos e reprodutivos. **Caderno de Cultura e Ciência**, v.12, n.2, p. 8-20, 2013.

MUNHOZ, M.; LUZ, C. F. P.; MEISSNER FILHO, P. E.; BARTH, O. M.; REINERT, F. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, n.2, p.209-214, 2008.

NASCIMENTO, W. M.; LIMA, G. P.; CARMONA, R. Influência da quantidade de pólen na produção e qualidade de sementes híbridas de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 21-25, 2011.

OLIVEIRA, D. L. Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do cerrado. **Estudos**, v. 38, n. 2, p. 301-332, 2011.

PEREIRA, B. E.; DIEGUES, A. C. Conhecimento de populações tradicionais como possibilidade de conservação da natureza: uma reflexão sobre a perspectiva da etnoconservação. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, n. 22, p. 37-50, 2010.

PERNA, T. A.; LAMANO-FERREIRA, A. P. do N. Revisão bibliométrica sobre o cultivo de plantas medicinais em quintais urbanos em diferentes regiões do Brasil (2009-2012). **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e Saúde**, v. 16, n. 1, p. 61-67, 2014.

PIEROZZI, N. I.; MENAÇOLLI, S. L. J. Karyotype and C-band Analysis in Two Species of *Genipa* L. (Rubiaceae, Gardenieae Tribe). **Cytologia**, n. 62, p. 81-90, 1997.

RIVERO, S.; ALMEIDA, O.; ÁVILA, S.; OLIVEIRA, W.; Pecuária e desmatamento: uma análise das principais causas diretas do desmatamento na Amazônia. **Nova Economia**, v. 19, n. 1, p. 41-66, 2009.

ROSA, R. D.; PERIN, C. L.; ROSA, R. D. Colonizador e colonos: na fronteira da terra o limite dos sonhos de um futuro promissor. **Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais**, v.2, n.1, p.71-82, 2003.

SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botânica Brasílica**. v. 15, n. 3, p. 369-378. 2001.

SELUCHINESK, R.D.C. **De heróis a vilões: imagem e auto-imagem dos colonos da Amazônia mato-grossense**. 2008. 263f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) - Centro de Desenvolvimento Sustentável da Universidade de Brasília. Brasília, 14 abr. 2008.

SIVIERO, A.; DELUNARDO, T. A.; HAVERROTH, M.; OLIVEIRA, L.C.; MENDONÇA, A. M. S. Cultivo de espécies alimentares em quintais urbanos de Rio Branco, Acre, Brasil. **Acta Botânica Brasília**, v. 25, n.3, p. 549-556, 2011.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática - Guia ilustrado para a identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. Nova Odessa, Plantarum. 2008, 704p.

TURNER, I. M. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. **Journal of Applied Ecology**, y, 33, p. 200-209, 1996.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, v.11, p. 413-418, 1996.

3. CAPÍTULOS

3.1. ESTUDO ETNOBOTÂNICO DO JENIPAPO (*Genipa americana* L., RUBIACEAE) EM COMUNIDADES RURAIS NO MUNICÍPIO DE CARLINDA, MATO GROSSO, BRASIL

Resumo – (Estudo etnobotânico do jenipapeiro (*Genipa americana* L., Rubiaceae) em comunidades rurais no município de Carlinda, Mato Grosso). A etnobotânica é a área do conhecimento que visa investigar a relação entre as pessoas e as plantas. A espécie alvo deste estudo é *Genipa americana* L. (Rubiaceae). O objetivo do trabalho foi realizar o estudo etnobotânico do jenipapo (*Genipa americana* L., Rubiaceae) com agricultores no município de Carlinda, Mato Grosso, buscando conhecer como os agricultores estão utilizando os recursos da espécie, bem como os mesmos estão conservando suas populações nas comunidades rurais. Participaram do estudo 20 moradores de comunidades rurais do município de Carlinda - MT, entre maio e agosto de 2016, selecionados pelo método de “Bola-de-Neve”. Os dados foram analisados qualitativamente e quantitativamente com a concordância de uso entre os informantes. Os entrevistados relataram reconhecer o jenipapo principalmente pela folha, fruto e porte da árvore. Foram obtidas 30 formas de uso, num total de 51 citações, posicionadas em 4 categorias (alimentar, artesanal, medicinal e outros), destacando-se a medicinal, com 47% dos usos, e 33,33% incluídos como alimentar. As maiores concordâncias de uso entre os entrevistados foram Licor (CUPc=29,17), Suco (CUPc=16,67) e uso do fruto, folha e casca para tratamento dos rins (CUPc = 16,67). As principais partes da planta utilizadas são folhas, frutos e a casca da árvore para medicina popular, culinária e tecnologia. As formas de utilização do jenipapo apresentadas pelos agricultores não põem em risco a diversidade genética e a distribuição da espécie por não necessitar de derrubada da planta.

Palavras-chave: conhecimento popular; agricultura familiar; conservação.

Abstract – (Ethnobotanical study of ‘jenipapo’ tree (*Genipa americana* L., Rubiaceae) in rural communities in the municipality of Carlinda, Mato Grosso state). Ethnobotany is the knowledge area that aims to investigate the relationship between people and plants. The target species of this study is *Genipa americana* L. (Rubiaceae). The aim of the study was to conduct an ethnobotanical study of ‘jenipapo’ (*Genipa americana* L., Rubiaceae) with producers in the municipality of Carlinda, Mato Grosso, seeking to know how the producers are using the resources of the species, as well as conserving their populations in the community. Twenty residents of rural communities in the municipality of Carlinda - MT, selected by the “Snowball” method, participated in the study between May and August 2016. The data were analyzed qualitatively and quantitatively with the agreement of the use among the informants. The interviewees reported to recognize the ‘jenipapo’ tree mainly for the leaf, fruit and the tree form. Thirty uses were obtained in a total of 51 citations, positioned in 4 categories (food, handmade, medicinal and others), among which one can highlight the medicinal and food ones, with 47% and 33.33% of the uses, respectively. The highest concordances of use among the interviewees were Liquor (CUPc = 29,17), Juice (CUPc = 16,67) and fruit, leaf and bark use for the treatment of kidneys (CUPc = 16,67). The main parts of the plant used are leaves, fruits and the tree’s bark for folk medicine, cooking and technology. The ways of using ‘jenipapo’ presented by the farmers do not jeopardize the genetic

diversity and the distribution of this species because they do not imply in tree-felling.

Key-words: popular knowledge; family farming; conservation.

Introdução

A etnobotânica é o estudo que visa conhecer a relação entre as pessoas e as plantas. Trata-se de identificar as formas de utilização de plantas úteis às populações tradicionais, além de obtenção de informações sobre o ciclo de vida da planta e aspectos favoráveis à sua ocorrência nos locais habitados (BALDAUF et al., 2007; CARNIELLO et al., 2010; CUNHA e BORTOLOTTI, 2011). Conforme Berlin e Berlin (2005), para um estudo etnobotânico de plantas medicinais é necessário que se levante principalmente o nome popular da planta, suas indicações, partes das plantas utilizadas nos preparos, modo de coleta para a efetividade da planta (estação, hora do dia), como devem ser preparadas, dosagem e efeitos desejados produzidos por cada ingrediente, duração do tratamento, e exigências comportamentais especiais a serem observados pelo paciente durante o tratamento.

Dados históricos evidenciaram o uso de plantas para fins alimentícios e medicinais há milhares de anos pelo homem de Neanderthal (HENRY et al., 2011; HARDY et al., 2012), o que revela como esse saber e contato com o meio em busca de soluções cotidianas é primitivo e ainda atualmente é utilizado. Dentre os grupos detentores deste conhecimento e constantemente investigados por autores estão os ribeirinhos amazônicos, indígenas, quilombolas e moradores de comunidades rurais em pequenos municípios (JOSHI e JOSHI, 2000; PATZLAFF e PEIXOTO, 2009; PEREIRA e DIEGUES, 2010; CAMARGO et al., 2014; SILVA et al., 2014; PERONI et al., 2016; PINTO et al., 2016). Barreira et al. (2015) alertaram para a possibilidade de perda desse conhecimento pelo êxodo de jovens para área urbana, sendo, portanto, necessário o registro do saber popular.

Na Amazônia, as pesquisas etnobotânicas por vezes são realizadas com moradores de áreas urbanas, como nos estudos de Emperaire e Eloy (2008), Siviero et al. (2011) e Gervazio (2015) que constataram a importância dos quintais florestais na alimentação dos moradores, além de outros usos e a variedade de espécies cultivadas pelos moradores, constituindo um estreitamento da relação entre comunidades florestais e áreas urbanas na Amazônia. Em comunidades rurais na Amazônia, os estudos etnobotânicos

revelam a importância em conhecer o saber popular para a criação de programas de conservação da diversidade e geração de renda, bem como a preservação do conhecimento popular (ALMEIDA et al., 2013; SALTOS et al., 2016).

O norte de Mato Grosso recebeu pessoas de vários estados do Brasil. Essas pessoas trouxeram consigo conhecimento popular e experiências de uso dos recursos vegetais e também aprenderam a utilizar o que a terra oferecia (SELUCHINESK, 2008). O estado de Mato Grosso abrange três biomas distintos: Pantanal, Cerrado e Amazônia; com 25% de área ao centro norte tipificada por transição entre cerrado e floresta amazônica (ROCHA et al., 2015) e passa por processo de expansão na agricultura e pecuária impulsionados pelo mercado externo. Estas atividades são as principais responsáveis pelo desmatamento, o que desperta para a necessidade de criação de soluções para a conservação da diversidade (FERREIRA et al., 2005; BRANDÃO et al., 2006; RIVERO et al., 2009).

A etnobotânica tem como um dos principais objetivos registrar o saber popular passado de geração a geração e relacionar com o uso dos recursos da flora (GUARIM NETO et al., 2000), tornando-se importantes para a elaboração de métodos de manejo consciente. Segundo Pereira et al. (2012), essa é uma forma de garantia da manutenção da diversidade cultural e vegetal, afinal, os estudos etnobotânicos promovem divulgação das espécies, podendo despertar interesse de quem ainda não conhece as etnoespécies e essa curiosidade o levar a conhecer. Uma vez conhecida como medicinal ou de uso culinário, a espécie passa a ser protegida e desta forma mantida no seu ambiente de ocorrência, podendo até vir a ser plantada pelos conhecedores. A proteção dos recursos naturais é um dos benefícios do trabalho de pesquisa etnobotânica, que deve ser questionado frequentemente e cumprido com ética (ALBUQUERQUE e HANAZAKI, 2006).

A espécie nativa estudada nesta pesquisa é *Genipa americana* L., conhecida popularmente como jenipapeiro, jenipapo, jenipá, jenipapinho, janipaba, janapabeiro, janipapo e janipapeiro (LORENZI, 2000).

O jenipapo é uma espécie funcionalmente dioica que pertence à família Rubiaceae e é caracterizado por apresentar folhas opostas, simples, oblongas-obovadas, coriáceas, curto-pecioladas, com duas estípulas interpeciolares e inserção oposta; as flores são campanuladas de corola branca a amarela, suavemente aromática; fruto anfissarcídio, ovoides, indeiscente, cor amarelo-alaranjado, com epicarpo pardo e com aroma característico levemente fermentado (CARVALHO, 2003; SOUZA e LORENZI, 2008). No Nordeste do Brasil há relatos de sua utilização na medicina popular e culinária e sua madeira é empregada em construções civis e fabricação moveleira (CARVALHO, 2003), além de ser uma planta importante na cultura indígena do país, com fruto utilizado na pintura do corpo (JESUS et al., 2015).

Diante da necessidade de divulgar a importância de conservação da flora, o objetivo do trabalho foi realizar o estudo etnobotânico do jenipapo (*Genipa americana* L., Rubiaceae) com agricultores familiares no município de Carlinda, Mato Grosso, buscando conhecer, principalmente, como que os agricultores estão utilizando os recursos da espécie, bem como o estado de conservação das populações da espécie nas comunidades estudadas.

Materiais e Métodos

Área de Estudo

A pesquisa foi realizada em comunidades rurais (Estrela Dalva, Estrela do Mar, Maravilha, Nossa Senhora Aparecida, Nossa Senhora das Graças e Renascer) do município de Carlinda, Mato Grosso, Brasil (Figura 1). A região foi colonizada no início da década de 1980, por famílias vindas de todas as regiões do Brasil, principalmente do sul e sudeste, a partir da parceria entre a Cooperativa Agrícola da Cotia juntamente com o Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA) (GASQUES et al., 2015).

O município de Carlinda possui área de 2.410 km² e está situado no Norte do Estado de Mato Grosso, cujas fronteiras geográficas são: a Noroeste do rio Teles Pires, a Leste o rio Quatro Pontes e ao Sul o rio Ariranha (UMETSU et al., 2012). Farid (1992) caracteriza a vegetação da região como Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Estacional Semidecidual. O clima nestes municípios é quente e úmido, com temperaturas médias anuais acima de 24°C, pluviosidade média anual acima de 2.400 mm, com uma estação seca definida de 3-5 meses (ZAPPI et al., 2011)

Conforme dados do IBGE (2016) Carlinda possui 6.415 residentes na zona rural e 4.575 na urbana, com o Índice de Desenvolvimento Humano (IDH-M) de 0,665. As principais atividades econômicas da região são a agricultura, predominando a produção hortícola, e pecuária de leite e de corte, desenvolvidas por agricultores familiares (CAIONI, 2015).

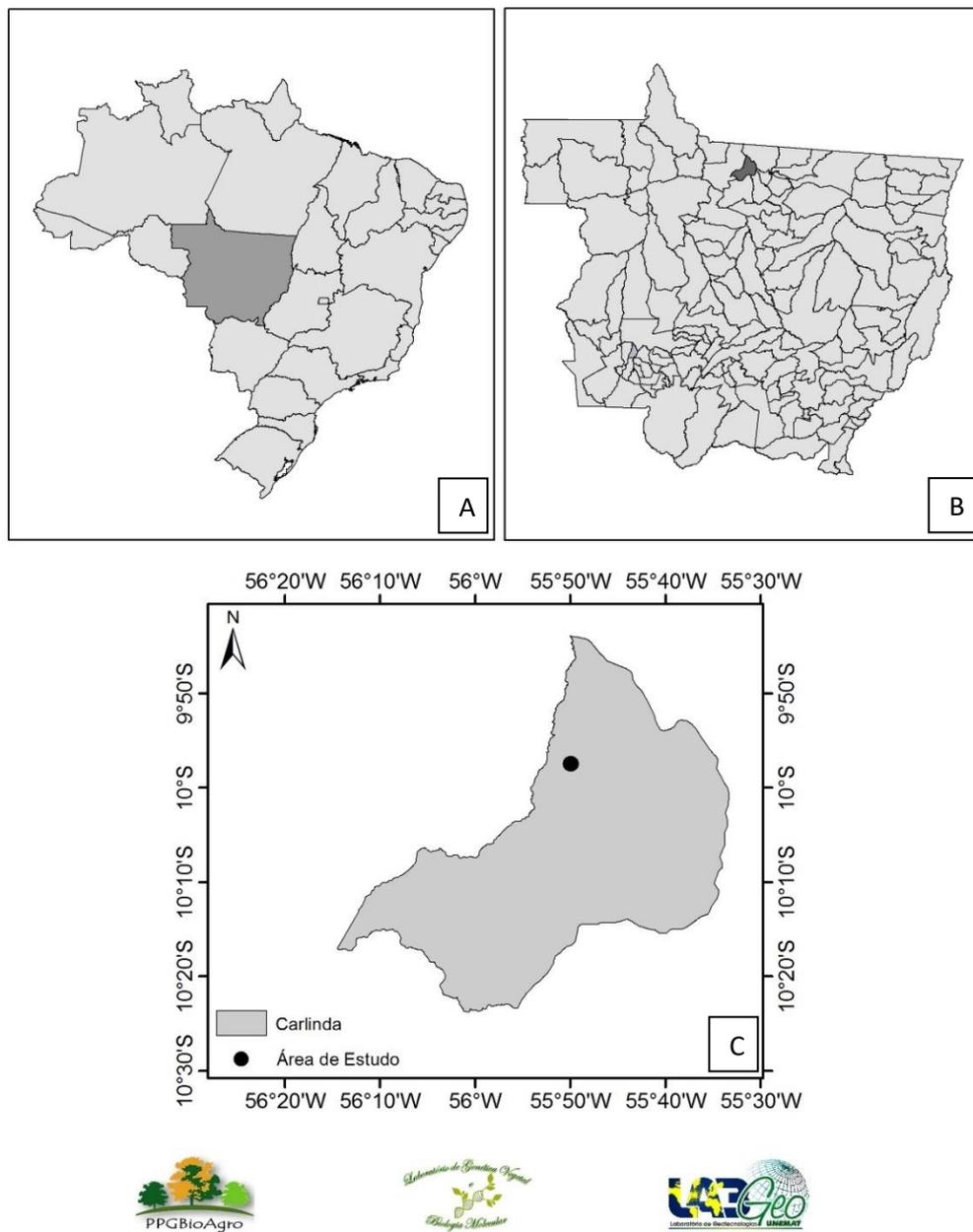


Figura 1. Município de Carlinda, localizado ao Norte do estado de Mato Grosso, Brasil. A – Estado de Mato Grosso no Centro-oeste do Brasil. B – Município de Carlinda, no Norte de Mato Grosso. C – Limites do município de Carlinda.

Metodologia

O projeto de pesquisa foi aprovado em 19 de Abril de 2016 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) sob o número 52641915.8.0000.5166, parecer consubstanciado 1.507.091. A pesquisa foi desenvolvida com entrevistas utilizando questionário com perguntas estruturadas e semiestruturadas (Anexo) entre maio e agosto de 2016.

Os agricultores entrevistados foram selecionados pela metodologia “Bola-de-Neve” (BERNARD, 2002). Para certificar-se que as informações relatadas pelos agricultores eram da espécie *G. americana*, os entrevistados tiveram acesso a fotografias das folhas, flores e frutos da espécie no início da entrevista (Figura 2).

Durante as entrevistas, amostras férteis foram coletadas, prensadas de acordo com técnicas usuais (FIDALGO e BONONI, 1989) e posteriormente depositadas no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM), na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), campus de Alta Floresta, Mato Grosso. As exsiccatas foram identificadas a partir de literaturas especializadas além de comparadas com exsiccatas depositadas no HERBAM.

O guia de entrevista foi dividido em itens de informação socioeconômica e conhecimento sobre o jenipapeiro, como usos, coleta e preparo. As respostas dos agricultores foram anotadas e analisadas quantitativamente com o método adaptado de Amorozo e Gély (1988), avaliando a importância relativa dos usos pelos agricultores. Os cálculos foram assim desenvolvidos:

$$\text{CUCs} = (\text{número de informantes que citaram usos} / \text{número de informantes que citaram uso da categoria}) \times 100$$
$$\text{FC} = (\text{número de informantes que citaram a categoria} / \text{número de informantes que citaram a categoria mais citada})$$

Depois que foi encontrada a concordância dos usos citados (CUCs) e do fator de correlação (FC), foi calculado a porcentagem corrigida de concordância dos usos:

$$\text{CUCsc} = \text{CUCs} \times \text{FC}$$

A diagnose morfológica da espécie foi realizada no Laboratório de Morfologia Vegetal do HERBAM com o uso de esteriomicroscópio. A diagnose usada na descrição morfológica foi baseada em Radford et al. (1974), exceto para frutos e sementes, que foi conforme Barroso et al. (1999). A ilustração botânica foi realizada no Herbário VIC, da Universidade Federal de Viçosa.



Figura 2. Realização de entrevistas etnobotânicas e apresentação de fotos do jenipapeiro utilizadas para esclarecimento sobre a espécie de estudo. A - Folhas; B – Flores; C – Frutos de jenipapo apresentadas aos entrevistados para confirmação da espécie de estudo. D – coleta de material fértil para montagem de exsicatas. E e F – entrevista com alguns moradores de comunidades rurais do município de Carlinda, MT. Fonte: Ruzza, 2017.

Resultados

A pesquisa foi realizada com 20 agricultores do município de Carlinda (MT), identificados pelo método “Bola de Neve”, que conhecem a espécie *G. americana*, popularmente chamada por eles como jenipapo. Foram 10 do sexo masculino e 10 do sexo feminino, com 70% com idade acima de 50 anos. Oitenta e cinco por cento dos conhecedores é casado. O grau de escolaridade observada entre os agricultores foi de 60% com Ensino Fundamental Incompleto (Figura 3). A origem dos conhecedores é predominantemente (65%) do sudeste e nordeste do Brasil (Figura 4).

Questionados sobre as atividades desenvolvidas como fonte de renda, 60% realizavam cultivo ou atividades relacionadas ao campo, por exemplo, serviços gerais, que corresponde prestação de serviços com obras de estaleiros, cuidados com gado e plantio e instalação de palanques para cerca. Essas atividades são desenvolvidas pelo grupo familiar, sendo citado de uma a cinco pessoas envolvidas - casos em que os filhos, maiores de idade e com família, mudaram do campo para cidade e já não desenvolviam atividades ligadas a agricultura e pecuária.

A respeito da fonte de renda dos moradores, foi verificado que realizavam mais do que uma atividade na mesma propriedade. Os produtores somavam ao cultivo a criação de animais ou cultivo de uma cultura somado à outra cultura, por exemplo, o cultivo de mandioca consorciada com o cultivo de banana. Apenas dois dos entrevistados alegaram não produzir nada em suas propriedades (Figura 5).

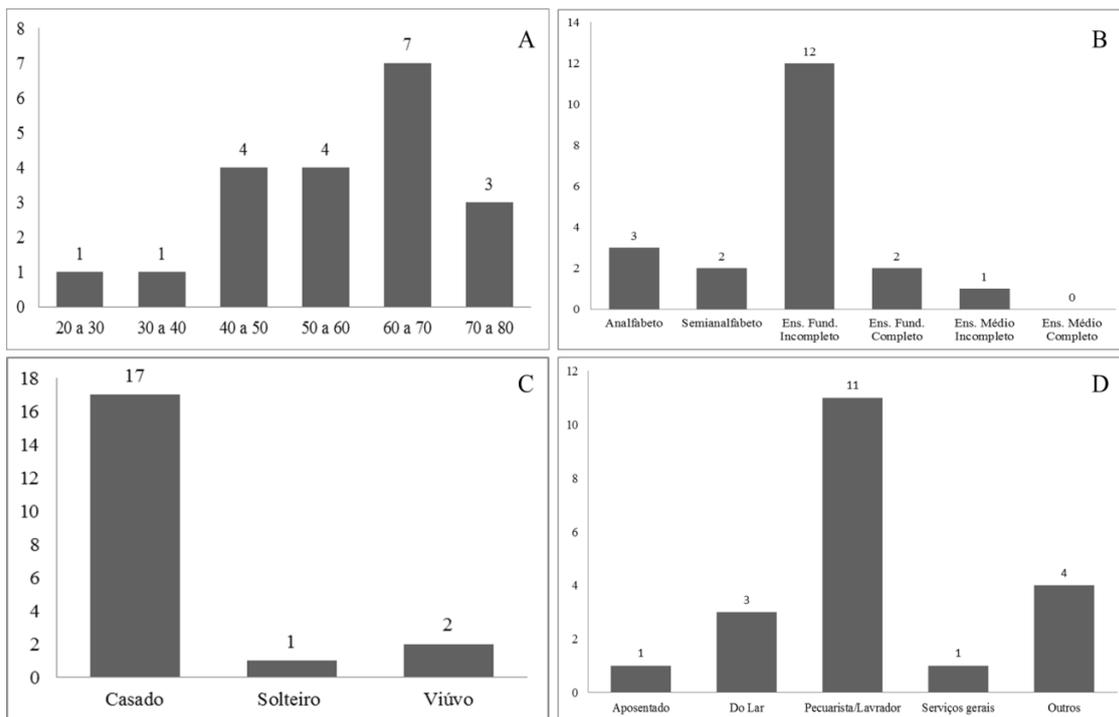


Figura 3. A - Faixa etária; B - Nível de escolaridade; C – Estado civil; D – Atuação profissional dos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT.

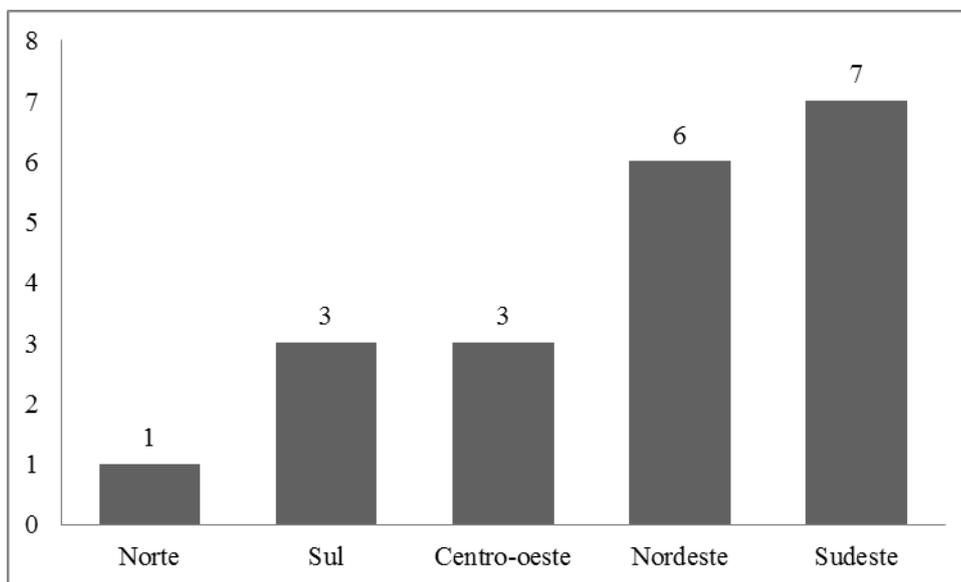


Figura 4. Regiões de origem dos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT.

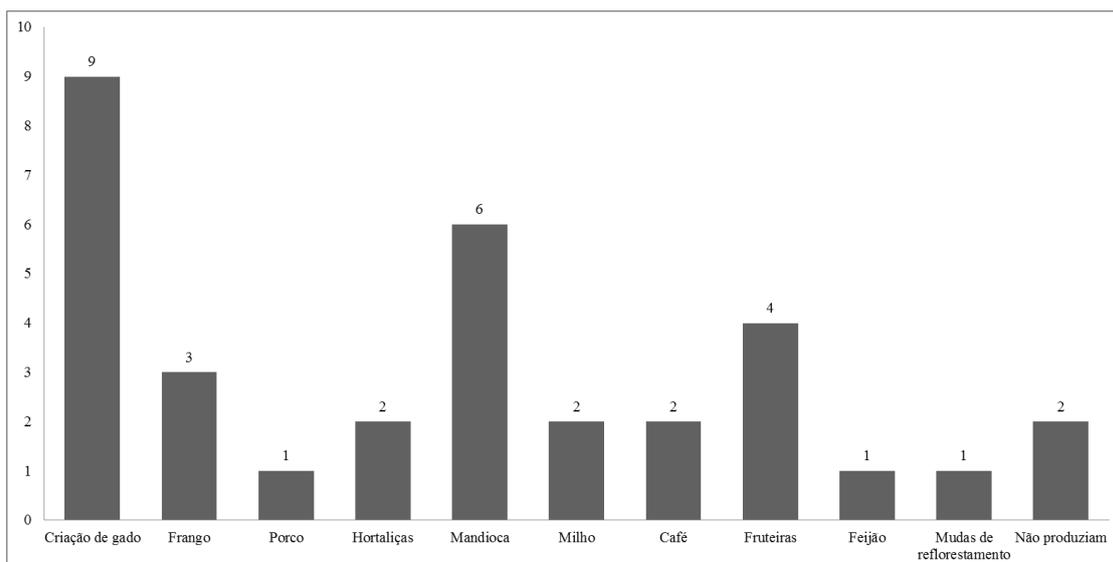


Figura 5. Produção para consumo e comércio desenvolvida pelos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT.

Com relação à espécie *G. americana*, os agricultores alegaram conhecer várias características da planta, utilizadas para seu reconhecimento, como folha, com 16 citações e fruto com 10 citações (Figura 6). Setenta e cinco por cento dos entrevistados alegaram ter aprendido a reconhecer a espécie com familiares em sua terra de origem, sendo cônjuge, pais e avós os familiares mais citados (Figura 6).

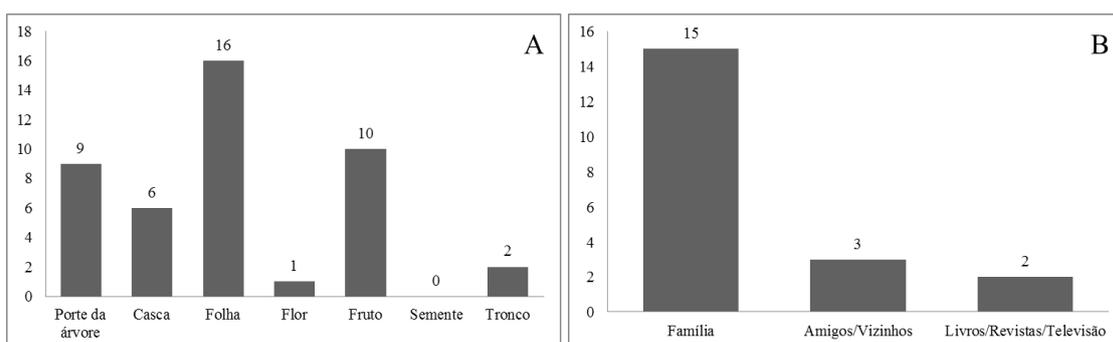


Figura 6. Respostas citadas pelos conhecedores populares entrevistados no município de Carlinda – MT. A – Característica de reconhecimento do jenipapo; B – Como aprenderam a reconhecer a espécie.

Esses conhecedores retrataram a espécie com suas palavras, destacando as partes da planta que permitiam o seu reconhecimento, como a cor do caule (*cinzento; esbranquiçado*), cor e forma das folhas (*verde escura, comprida*), forma, cor e odor dos frutos (*redondos, amarronzados, cheiro forte e*

doce); além de informações sobre os locais de ocorrência da espécie (*áreas úmidas, espigão*), os dispersores de sementes (*veado-mateiro, paca, anta, pássaros, peixes*) e detalhes fenológicos a respeito da espécie que é dioica funcional, descrevendo a diferença entre o cálice das flores masculinas (*estreito*) e femininas (*forma do fruto*).

Os caracteres citados foram observados na análise da morfologia da espécie (Figura 7), que assim foi descrita: árvores dioicas funcionais 6,00-16,00 m; ramos jovens cilíndricos, glabros. Estípulas interpeciolares 0,90-2,60x0,30-0,70 cm, triangulares a estreitamente triangulares, caducas. Folhas congestas opostas; pecíolo 0,70-1,50 cm compr., subcilíndrico; lâmina foliar 23,40-62,00x7,70-22,00 cm, estreitamente obtrulada, raramente elíptica, ápice agudo, raramente cuspidado, base atenuada, raramente cuneada, faces adaxial e abaxial glabras, margens inteiras levemente sinuosas. Inflorescência com flores masculinas terminais em dicásio 4-23 flores; inflorescência com flor feminina solitária. Flores femininas com pedicelos 1,30-2,00 cm compr., cálice gamossépalo truncado, geralmente rompido na região terminal, 0,60-1,20x0,80-1,10 cm, corola gamopétala 2,60-3,30 cm, tubo viloso internamente 0,80-1,10x0,60-0,80 cm; pétalas 6, puberulentas; estames 6, sésseis, epipétalos 1,2-1,30 cm compr., não funcional; pistilo funcional, ovário ínfero 1,10-1,30x1,10-1,20 cm, pluriovulado, disco nectarífero presente; estilete 1,10-1,30 cm compr., estigma bifido 1,80-2,00 cm compr. Flores masculinas com pedicelos 0,70-1,20 cm compr.; cálice gamossépalo truncado, geralmente rompido na região terminal 0,60-1,10x0,60-0,90 cm, corola gamopétala 2,70-3,10 cm, tubo viloso internamente, 0,60-0,70x0,40-0,60 cm; pétalas 5, puberulentas, estames 5, sésseis, epipétalos 1,30-1,50 cm compr.; pistilo não funcional, ovário ínfero 0,60-1,00x0,60-0,70 cm, pluriovulado, disco nectarífero presente, estilete 1,00-1,30 cm compr. estigma bifido 1,50-1,60 cm compr. Fruto anfissarcídeo, de 7,00-10,00x7,50-11,00 cm, ferrugíneo, globoso. Sementes ampla ovada a elíptica, 0,70-0,80x0,80-0,90 cm, cor amarelada.

Material examinado: BRASIL. MATO GROSSO: Alta Floresta, 9°49'33,9" S, 56°05'08,8" W, 15/VIII/2016, fr., Ruzza, D. A. C. 14021 (HERBAM), Vila Rural, 15/VIII/2016, fl., Ruzza, D. A. C. 14022 (HERBAM),

15/VIII/2016, fl., Ruzza, D. A. C. (HERBAM), fr., Ruzza, D. A. C. 14026 (HERBAM), 17/VII/2016, fl., Ruzza, D. A. C. 14027 (HERBAM).

O jenipapo é uma espécie utilizada pelos agricultores de Carlinda em 30 formas de uso, havendo 51 citações, classificadas em 4 categorias (alimentar, artesanal, medicinal e outros). Quarenta e sete por cento das citações de usos são da categoria medicinal e 33,33% da categoria alimentar (Tabela 1). As categorias alimentar e medicinal se destacaram, havendo 17 citações para alimentar e 24 para medicinal. As maiores concordâncias de uso entre os entrevistados foram para o preparo do licor (CUPc=29,17), suco (CUPc=16,67) e uso do fruto, folha e casca para tratamento dos rins (CUPc = 16,67) (Tabela 2).

Dentro destas categorias, observou-se o pouco processamento do fruto para o preparo principalmente de bebidas, sendo o fruto cortado e posto para curtir ou triturado. Segundo a informante Gehard, F. (44 anos), a fabricação de doces carece de corte e cozimento do fruto, resultando em balas, compotas ou conservas, variando no preparo a quantidade de açúcar e tempo de cozimento.

Em relação à utilização medicinal, foram citadas as folhas, fruto, casca do fruto e casca da árvore, como partes da planta usadas para confecção de medicamentos. As indicações citadas variaram destacando-se o uso para os rins e infecções. As formas de preparo também variaram desde o uso *in natura* até o preparo de pó da casca do fruto.

Sobre usos para tecnologia (Tabela 1), os entrevistados citaram as formas de utilização comuns em seus estados de origem, porém muitos alegaram não os realizar. O único uso tecnológico conhecido e desenvolvido por um dos entrevistados [Souza, C. F. (68 anos)] é a tintura obtida a partir das folhas para tingir tecidos. Os trabalhos artesanais que têm como matéria-prima a madeira do jenipapeiro, embora conhecidos e citados pelos entrevistados, não são realizados entre os agricultores estudados em Carlinda – MT.

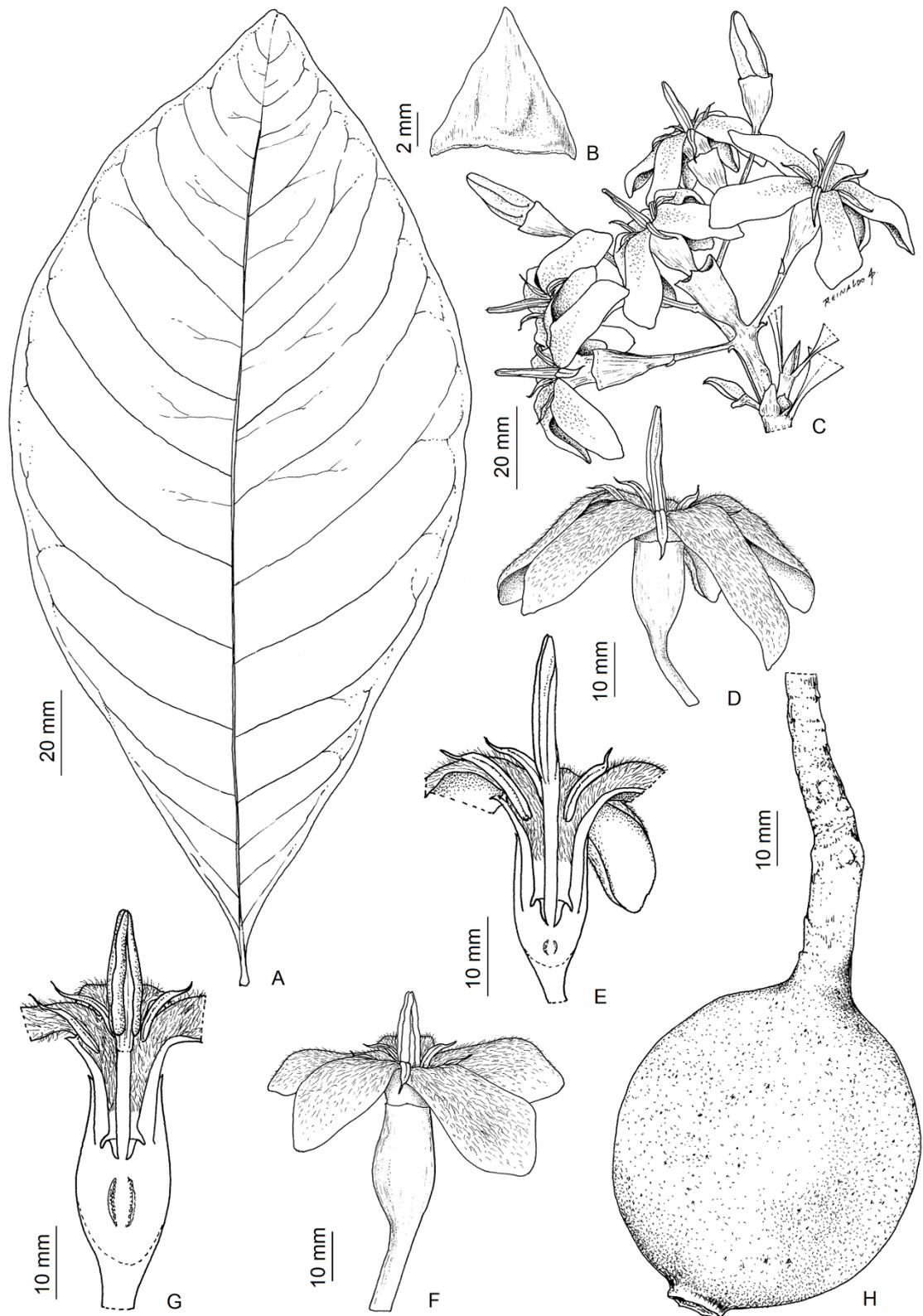


Figura 7. Estruturas diagnósticas de *Genipa americana* (jenipapo): A) Folha; B) Estípula; C) Inflorescência; D) Flor masculina; E) Corte em flor masculina; F) Flor feminina; G) Corte em flor feminina; H) Fruto. Imagem: Reginaldo Pinto.

Tabela 1. Categorias e tipos de usos do jenipapo (*G. americana*) entre agricultores no município de Carlinda - MT.

Categoria	Tipos de usos	Nº de citações	Parte usada	Preparo
Alimentar	Licor	7	FR	Curtido
	Suco	4	FR	Triturado
	Doces	3	FR	Cozido
	Batidinha	2	FR	Triturado
	Vinho	1	FR	Curtido
Tecnologia	Móveis	2	MD	-
	Colher de madeira	2	MD	-
	Cabo de Ferramentas	2	MD	-
	Tintura	1	FL	Curtido
	Painéis	1	MD	-
Medicinal	Rins	4	FR/F/CA	Suco/Xarope/Fervido/ Infusão/Curtido
	Câncer de próstata	2	FR	<i>in natura</i> /Licor
	Emagrecedor	2	CA	Fervida/ curtida
	Estômago	2	FR/F/CF/CA	Infusão
	Gripe	1	FR	Xarope
	Viagra	1	FR	<i>in natura</i> /Licor
	Depurativo do Sangue	1	FR	Suco/Licor
	Reumatismo	1	CA	Infusão/Garrafada
	Vermífugo	1	SM	Adoçada
	Diabetes	1	FR	Suco
	Infecção	1	CA	Infusão
	Fratura óssea	1	FR	Emplasto
	Antibiótico local	1	CF	Triturada-emplasto
	Regulador menstrual	1	F/FR	Infusão
	Infecção de garganta	1	F/FR	Infusão
Tosse alérgica	1	F/FR	Infusão	
Intestino	1	F/FR	Infusão	
Útero e Ovários	1	F/FR	Infusão-assento	
Outros	Reflorestamento	1	-	-
	Repelente	1	F	Queimada

Todas as respostas dos entrevistados foram dispostas na tabela. Siglas: CA – Casca da Árvore; CF- Casca do Fruto [pericarpo]; F – Folha; FR – Fruto; MD – Madeira.

Tabela 2. Concordância dos usos citados (CUCs) do jenipapo, Fator de correlação (FC), e porcentagem corrigida de concordância dos usos citados por agricultores de Carlinda – MT. NiCUC – nº de informantes que citou uso da categoria; NiCUP – nº de informantes citando usos principais; CUP – índice de concordância de uso principal; e CUPc – CUP corrigido.

Categoria	Tipos de usos	NiCUC	NiCUP	CUP	FC	CUPc
Alimentar	Licor	17	7	41,18	0,71	29,17
	Suco	17	4	23,53	0,71	16,67
	Doces	17	3	17,65	0,71	12,50
	Batidinha	17	2	11,76	0,71	8,33
	Vinho	17	1	5,88	0,71	4,17
Tecnologia	Móveis	8	2	25,00	0,33	8,33
	Colher de madeira	8	2	25,00	0,33	8,33
	Cabo de ferramentas	8	2	25,00	0,33	8,33
	Tintura	8	1	12,50	0,33	4,17
	Painéis	8	1	12,50	0,33	4,17
Medicinal	Rins	24	4	16,67	1,00	16,67
	Câncer de próstata	24	2	8,33	1,00	8,33
	Emagrecedor	24	2	8,33	1,00	8,33
	Estômago	24	2	8,33	1,00	8,33
	Gripe	24	1	4,17	1,00	4,17
	Viagra	24	1	4,17	1,00	4,17
	Depurativo do sangue	24	1	4,17	1,00	4,17
	Reumatismo	24	1	4,17	1,00	4,17
	Vermífugo	24	1	4,17	1,00	4,17
	Diabetes	24	1	4,17	1,00	4,17
	Infecção	24	1	4,17	1,00	4,17
	Fratura óssea	24	1	4,17	1,00	4,17
	Antibiótico local	24	1	4,17	1,00	4,17
	Regulador menstrual	24	1	4,17	1,00	4,17
	Infecção de garganta	24	1	4,17	1,00	4,17
	Tosse alérgica	24	1	4,17	1,00	4,17
	Intestino	24	1	4,17	1,00	4,17
Útero e Ovários	24	1	4,17	1,00	4,17	
Outros	Reflorestamento	2	1	50,00	0,08	4,17
	Repelente	2	1	50,00	0,08	4,17

Discussão

Foi observado, neste estudo, que a maioria dos conhecedores do jenipapo, tinham idade superior a 40 anos, o que é comum em estudos etnobotânicos, como visto nas pesquisas realizadas por Tiago (2016), Almeida et al. (2014) e Amorozo (2002). Em geral, essas pessoas são as que carregam os saberes adquiridos com antepassados ou que aprenderam a reconhecer os recursos naturais da região e são elas que repassarão aos filhos e jovens. Da mesma forma, em uma comunidade, são essas as pessoas referenciadas quando se procura o saber popular, o que foi possível observar pelo método “Bola de Neve”. O método “Bola de Neve”, segundo Bernard (2002) é muito eficaz, pois permite o direcionamento imediato ao conhecedor popular. Os casos em que mais jovens de 40 anos foram indicados tinham relação com a filiação ou parentesco com algum conhecedor popular, ou com a origem destas pessoas, como foi o caso de uma conhecedora de 35 anos (N. P. P.), antes residente no estado de Rondônia.

O tamanho da propriedade, o número de pessoas envolvidas e as atividades desenvolvidas permitiram caracterizar o trabalho familiar na propriedade, dentro das comunidades visitadas. Em conversa, os moradores falavam sobre os filhos maiores de idade que casaram e passaram a trabalhar na cidade, o que também justifica o maior percentual de pessoas com idade superior a 40 anos. A saída de jovens do meio rural para centros urbanos tem sido documentada desde a década de 1940 no Brasil, e teve crescimento gradual até o término da década de 1990 (ABRAMOVAY, 1999), o que ainda é observado atualmente com menor intensidade do que anos anteriores (LOMBARDI, 2011). Mas, Carlinda ainda mantém maior percentual populacional residente na área rural, contrapondo com o município vizinho, Alta Floresta, que apresenta mais de 85% da população residente na zona urbana (IBGE, 2016).

A maioria dos moradores entrevistados alegou ter estudado até o ensino fundamental. Essa realidade vem a ser resultado da cultura de algumas famílias, como é o caso de entrevistadas que citaram que os pais a tiraram da escola assim que ela aprendera a ler e escrever; outros casos, por não ter

havido acesso as séries superiores, já que escolas municipais ofereciam somente as séries iniciais, do ensino fundamental, tendo os alunos que se deslocar a uma escola estadual para prosseguir os estudos, o que nem sempre ocorria; e, por fim, em outros casos a saída dos alunos seria para auxiliar a lida com a terra. Este último caso é característico em comunidades, pois muitos moradores são envolvidos na agricultura desde muito cedo (AMOROZO, 2002).

Nas propriedades, os moradores produzem diversas culturas para consumo e venda tais como a mandioca, café, milho, banana e espécies de fruteiras cítricas. Mas, predominou a criação de gado. Muitos proprietários somavam dois ou mais tipos de produção que eram destinadas ao consumo próprio e ao comércio local [Gehard, F. (44 anos); Silva, A. B. (65 anos); Santos, A. (64 anos)], assim como também, alguns residentes desempenhavam duas atividades, sendo uma delas ligada ao campo e outra não.

Alguns autores citaram e classificaram as atividades econômicas dos agricultores, como nos trabalhos de Fuller (1983), Fuller e Brun, (1988), Brun e Fuller (1991) e Shneider (2003) que definiram o termo *part time farming* (agricultura em tempo parcial), que se refere às atividades de produção no campo por menos de um ano completo de trabalho, complementando com outra função; e, *pluriactivity (pluriatividade)*, em que outras atividades, não necessariamente ligadas à agricultura, assumidas ao mesmo tempo em que a atividade no campo, por algum membro da família, com o objetivo de sustentar ou de dar suporte, o que foi muito observado nestas comunidades.

Os entrevistados são predominantemente de origem dos estados do nordeste e sudeste. Isso resulta dos grandes incentivos no início da colonização para a vinda de agricultores do norte do Paraná e da região Sudeste e após isso, o surgimento do garimpo com a vinda de pessoas do Norte e Nordeste para a região (SELUCHINESK, 2008). E os conhecimentos sobre a espécie *G. americana* foram trazidos destas regiões. Todos os entrevistados alegaram ter conhecido a espécie na infância com familiares em seus estados de origem e chamavam a espécie de jenipapo, embora, segundo

Lorenzi (2000), haja registros de outros nomes populares conhecidos como: jenipá, jenipaba, jenipapinho, janapabeiro e janipaba.

O entrevistado Vendrame, J. C. (64 anos) fez uma observação a respeito do cálice nas flores de jenipapo, que na flor feminina se apresenta maior que a masculina. *G. americana* é uma espécie com dioicia funcional, apresentando em suas flores masculinas e flores femininas todas as estruturas, no entanto, nas flores femininas os estames não são funcionais (estaminódios), da mesma forma nas flores masculinas os ovários não são funcionais. Bawa et al. (1985) citam o jenipapo como uma espécie dioica, no entanto, esse termo não é correto para definir esta espécie, pois as flores apresentam todas as estruturas masculinas e femininas, havendo indivíduos que desenvolvem o ovário e outros indivíduos que não o desenvolvem (mesmo tendo-o), caracterizando a dioicia funcional, termo utilizado por Gurgel Garrido et al. (1997).

Nenhum dos agricultores alegou desempenhar atividade comercial com a espécie *G. americana*, mas alegaram mantê-la na propriedade para a alimentação dos animais que criam. Citaram também formas de utilização praticadas em seus estados de origem e utilizadas na região e que podem ser comercializadas, como por exemplo, o licor, doces em compotas e balas. Porém, 25% alegaram não praticar regularmente, o que pode favorecer a perda de conhecimento relacionado ao uso do jenipapo. Quanto aos usos destina-se para fins medicinais, alimentício e uso tecnológico em que folhas, frutos e a casca da árvore são as partes utilizadas pelos entrevistados. A elaboração de projetos e oficinas que incentivem a passagem do conhecimento dentro de comunidades de forma a promover a identificação da espécie e também mostrando como os produtos obtidos da espécie podem auxiliar como fonte de renda, podem ser formas de estimular a conservação do conhecimento e da espécie (e outras com semelhantes potencialidades).

Os principais usos são para fabricação de licores, doces e sucos, que apresentam sabor adocicado e são muito apreciados. Dos usos alimentícios o fruto maduro é utilizado para fabricação de compotas, doces cristalizados, sorvetes e refrescos; por infusão em álcool, prepara-se o licor; e

quando submetido à fermentação, tem-se o vinho (SILVA et al. 2006), como utilizado pelos entrevistados.

Um dos entrevistados, Souza, C. F. (68 anos), alegou usar o extrato da folha para pintura de tecidos. A cor azul, oriunda da genipina, está presente também em outras partes da planta. Algumas atribuições da literatura para a espécie fazem referência a cor obtida do jenipapo: o suco do fruto verde ganha coloração azulada com a oxidação devido a reação entre a genipina e uma amina primária (SILVA et al. 2014; BENTES e MERCADANTE, 2014; BENTES et al., 2015), sendo utilizado na pintura do corpo e de cerâmica pelos indígenas (LORENZI e MATOS, 2002; JESUS et al., 2015).

Os iridóides e metabólicos secundários de *G. americana* foram estudados por Bentes e Mercadante (2014) e constataram a presença de geniposídio nos frutos verdes e ausente em frutos maduros. A partir deste composto é formada a genipina, que revela a cor azul característica do fruto. A genipina também é presente em frutos de *Gardenia jasminoides* Ellis (também da família Rubiaceae), e é utilizada na indústria alimentícia como corante natural na Coreia do Sul e no Japão (PARK et al., 2002). Assim, o jenipapeiro tem potencial e pode ser fonte de genipina.

Os usos para tecnologia citados pelos entrevistados, exceto a tintura extraída das folhas, tinham como matéria prima a madeira do jenipapeiro. Silva et al. (2006) afirma que esta é dura e fácil de moldar, podendo ser utilizada em marcenaria, fabricação de cabo de machado, construções rurais e para a produção de lenha e carvão e, além disso, a casca, rica em tanino, pode ser usada para curtir couro. No entanto, o uso da madeira de jenipapo não é muito difundido no município de Carlinda - MT, possivelmente devido a disponibilidade de outras espécies madeireiras na região (FERRAZ et al., 2004; LENTINI et al., 2005).

Os diversos usos medicinais de jenipapo citados pelos moradores de Carlinda-MT, são para tratamento de câncer, diabetes, doenças do estômago, intestino, rins, útero e ovários, além de ser utilizado também como vermífugo e antibiótico. O entrevistado Gonçalves, B. (76 anos) indicou o suco de um fruto

de jenipapo, sem sementes e sem casca, com água ou água de coco para prevenção do diabetes, ingerindo-o três vezes ao dia, durante nove dias, porém alertou para possibilidade de intoxicação se usado em excesso.

Martínez et al. (2010) constataram que o jenipapo é muito utilizado em comunidades ribeirinhas no Baixo-Amazonas, na alimentação e medicina, indicado principalmente para tratamento de anemia e icterícia. Para Silva et al. (2006) o jenipapo pode ter ação bactericida e germicida devido a presença de fenol, sendo também utilizado no tratamento de gonorreia. Os mesmos autores descreveram a utilização do fruto verde como adstringente, anti-inflamatório, anti-anêmico, diurético, contra enterite, hidropisia, asma e anemia, sendo a raiz utilizada como purgativo e a casca no tratamento de úlceras de origem escorbútica, doenças venéreas, o inchaço do fígado e do baço.

Oliveira (2011) descreveu o uso de todas as partes da planta de jenipapeiro na medicina caseira: chá de raízes (purgante), sementes esmagadas (para vômito), chá das folhas (como antidiarréico), fruto verde ralado (para asma), suco do fruto maduro (tônico para estômago, diurético e desobstruente). Ueda et al. (1991), observaram que a genipina extraída dos frutos e folhas do jenipapo promoveu redução de tumores em cultura de células cancerígenas, fazendo relação com as utilizações indicadas pelos conhecedores.

Outro uso conhecido para a espécie *G. americana* é sua utilização em reflorestamento. Crestana (2000) aponta a alta capacidade regenerativa da espécie, além da grande produção de sementes, no entanto há fragilidade de indivíduos nas fases iniciais relacionados à adversidades, como regime hídrico. Mas ainda assim, o jenipapo é uma espécie com potencial para recuperação de áreas com ampla distribuição na América, por sua adaptação a vários tipos de clima e solo.

Frutos e folhas podem ser usados como forragem para bovinos, caprinos e suínos (OLIVEIRA, 2011). Crestana et al. (1992) relataram que o fruto de jenipapeiro leva doze meses para o desenvolvimento completo. A dispersão de sementes ocorre pela água, peixes, morcegos, macacos e

serelepes (CRESTANA et al., 1992; CARVALHO, 2003; ARAÚJO & PINHEIRO, 2009;). Outras pesquisas relatam a dispersão de sementes do jenipapo por jabuti-piranga (*Geochelone carbonaria*) e do jabuti-tinga (*G. denticulata*) (STRONG e FRAGOSO, 2006).

Os entrevistados Souza, A. S. S. de (52 anos), Sá, C. S. (42 anos) e Lisboa, J. R. (48 anos) informaram que a anta, *Tapirus terrestris* (Linnaeus, 1758), consome o fruto de jenipapo. Os agricultores Santos, J. S. (50 anos), Brito, J. (59 anos) e Paulista, N. P. (35 anos) citaram veado-mateiro, *Mazama americana* (Erxleben, 1777) e *M. gouazoubira* (G. Fischer, 1814), também como dispersor de sementes da espécie. Bachand et al. (2009), em estudo com *T. terrestris*, e Kokubun et al. (2012) em estudo com *M. americana* e *M. gouazoubira*, evidenciaram que estes mamíferos têm dieta flexível, variando de acordo com a vegetação disponível. Mas não foram encontradas informações na literatura sobre a dispersão de jenipapo por estes animais, portanto estudos de observação da espécie para identificar os dispersores de sementes são necessários e podem vir a auxiliar na elaboração de projetos de conservação da espécie vegetal e de animais na região.

Além da recuperação de áreas, a criação de mecanismos de conservação das florestas também tem sido foco de preocupação entre pesquisadores (LOWE et al., 2005; WARD et al., 2005; LAURANCE e VASCONCELOS, 2009). Um método economicamente viável conhecido, utilizado e incentivado atualmente é a associação das florestas a culturas agrícolas – Sistemas Agroflorestais (SAFs) (SANTOS e PAIVA, 2002; SOUZA e PIÑA-RODRIGUES, 2013).

Em geral as espécies presentes nos SAFs são utilizadas na adubação, proteção e sombreamento do solo, além de complementar com recursos madeireiros e alimentares para os agricultores e animais silvestres (FERNANDES et al., 2014). Sistemas que envolvem a agricultura com espécies florestais podem ser multifuncionais e podem envolver espécies forrageiras, fixadoras de nitrogênio, espécies cuja serrapilheira seja adequada para proteção do solo, além de espécies que tragam retorno econômico pela

produção de frutos, madeira e semente (BUDOWSKI, 1991; FREITAS et al., 2013).

Desta forma, permite-se inferir que o jenipapo pode ser parte do conjunto de espécies utilizadas em SAFs, devido seu potencial econômico, por ser utilizada na medicina, culinária e artesanato e por ser atraente a fauna, além de ser consumida pela criação (gado, porcos e galinhas).

Conclusão

Os conhecedores populares entrevistados utilizam o jenipapo. As principais partes da planta utilizadas são folhas, frutos e a casca da árvore para medicina popular, culinária e tecnologia.

As formas de utilização do jenipapo apresentadas pelos agricultores não põem em risco a diversidade genética e a distribuição da espécie por não necessitar de derrubada da planta.

A pouca utilização desse conhecimento somada ao êxodo rural põe em risco de perda as informações sobre o jenipapo.

Há necessidade de elaboração de projetos que incentivem o uso de conhecimento popular e que permitam difundir a cultura de uso do jenipapo.

Referências

- ABRAMOVAY, R. Agricultura familiar e desenvolvimento territorial. **Revista da Associação Brasileira de Reforma Agrária**, v. 28, n. 1, p. 1-29, 1999.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C.; CABALLERO, J. Structure and floristics of homegardens in Northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 62, p. 491–506, 2005.
- ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 678-689, 2006.
- ALMEIDA, L. S.; GAMA, J. R. V; OLIVEIRA, F.A.; FERREIRA, M. S. G.; MENEZES, A. J. E. A.; GONÇALVES, D. C. M. Uso de espécies da flora na comunidade rural Santo Antônio, BR-163, Amazônia Brasileira. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 4, p.435-446, 2013.
- ALMEIDA, S. E.; PASA, M. C.; GUARIN, V. L. M. S. Uso da biodiversidade em quintais de comunidades tradicionais da Baía de Chacorore, Barão de Melgaço, Mato Grosso, Brasil. **Biodiversidade**, v.13, n1, p. 141-155, 2014.
- AMOROZO, M. C. M.; GÉLY, A. Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas. Barcarena, PA, Brasil. **Boletim do Museu Emílio Goeldi**, Série Botânica, Suplemento, v. 4, p. 47-129, 1988.
- AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.16, n.2, p. 189-203, 2002.
- ARAUJO, N. A.; PINHEIRO, C. U. B. Relações ecológicas entre a fauna ictiológica e a vegetação ciliar da região lacustre do baixo pindaré na baixada maranhense e suas implicações na sustentabilidade da pesca regional. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 22, p. 55-68, 2009.
- BALDAUF, C.; HANAZAKI, N.; REIS, M. S. Caracterização etnobotânica dos sistemas de manejo de samambaia-preta (*Rumohra adiantiformis* (G.Forst) Ching - Dryopteridaceae) utilizados no sul do Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 21, p. 823-834, 2007.
- BARREIRA, T. F.; PAULA FILHO, G. X.; RODRIGUES, V. C. C.; ANDRADE, F. M. C.; SANTOS, R. H. S.; PRIORE, S. E.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Diversidade e equitabilidade de Plantas Alimentícias Não Convencionais na zona rural de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.4, p.964-974, 2015.
- BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e Sementes: Morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**, Viçosa, MG, Editora UFV, 1999, 443 p.

BAWA, K. S.; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, v. 72, n. 3, p. 331-345, 1985.

BENTES, A. de S.; SOUZA, H. A. L. de; AMAYA-FARFAN, J.; LOPES, A. S.; FARIA, L. J. G. Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n.6, p. 3919–3924, 2015.

BENTES, A. S.; MERCADANTE, A. Z. Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa americana* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 10800–10808, 2014.

BERLIN E. A.; BERLIN, B. Some field methods in medical ethnobiology. **Field Meth**, v.17, p.235-268, 2005.

BERNARD, H. R. **Research methods in anthropology**: qualitative and quantitative approaches. Walnut Creek: Altamira Press, 2002. 753p.

BRANDÃO, A. S. P.; REZENDE, G. C.; MARQUES, R. W. C. Crescimento agrícola no período 1999/2004: a explosão da soja e da pecuária bovina e seu impacto sobre o meio ambiente. **Economia Aplicada**, v.10, n.2, p. 249-266, 2006.

BRUN, A.; FULLER, A. **Farm family pluriactivity in Western Europe**. United Kingdom, The Arkleton Research. 1991. 76p.

BUDOWSKI, G. Aplicabilidad de los sistemas agroflorestais. In: SEMINÁRIO SOBRE PLANEJAMENTO DE PROJETOS AUTO-SUSTENTÁVEIS DE LENHA PARAAMÉRICA LATINA E CARIBE, 1991, Turrialba. **Anais...** Turrialba: FAO, 1991. v.1. p.161-167.

CAIONI, C. **Dinâmica da temperatura superficial e a agricultura familiar (produção hortícola) no município de Carlinda/MT**, 2015. 95 f. Dissertação - Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias da Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2015.

CAMARGO, F. F.; SOUZA, T. R.; COSTA, R. B. Etnoecologia e etnobotânica em ambientes de Cerrado no Estado de Mato Grosso. **Interações**, v. 15, n. 2, p. 353-360, 2014.

CARNIELLO, M. A.; SILVA, R. S.; CRUZ, M. A. B.; GUARIM NETO, G. Quintais urbanos de Mirassol D'Oeste-MT, Brasil: uma abordagem etnobotânica. **Acta Amazônica**, v.40, n.3, p. 451-470, 2010.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**: Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, vol. 1. Brasília, DF: Embrapa informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1.039 p.

CRESTANA, C. S. M.; BATISTA, E. A.; MARIANO, G. Fenologia da frutificação de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar do Rio Moji Guaçu, SP. **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, n.45, p.31-34, 1992.

CRESTANA, C. S. M. Estrutura populacional de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata riparia do Rio Moji-guaçu, em Conchal – SP. **Revista Instituto Florestal**, v. 12, n. 2, p. 105-117, 2000.

CUNHA, S. A.; BORTOLOTTI, I. M. Etnobotânica de plantas medicinais no assentamento Monjolinho, município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v 25 n 3, p. 685-698, 2011.

EMPERAIRE, L.; ELOY, L. A cidade, um foco de diversidade agrícola no Rio Negro (Amazonas, Brasil). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 3, p.195-211, 2008.

FARID, L. H. **Diagnóstico preliminar dos impactos ambientais gerados por garimpos de ouro em Alta Floresta/ MT: um estudo de caso**. Rio de Janeiro: CETEM/ CNPq. p. 190, 1992.

FERNANDES, J. M.; GARCIA, F. C. P.; AMOROZO, M. C. de M.; SIQUEIRA, L. C. de; MAROTTA, C. P. B.; CARDOS, I. M. Etnobotânica de Leguminosae entre agricultores agroecológicos na Floresta Atlântica, Araponga, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 2, p. 539-554, 2014.

FERRAZ, I. D. K.; LEAL FILHO, N.; IMAKAWA, A. M.; VARELA, V. P.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Características básicas para um agrupamento ecológico preliminar de espécies madeireiras da floresta de terra firme da Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 4, p. 621 – 633, 2004.

FERREIRA, L. V.; VENTICINQUE, E.; ALMEIDA, S. O desmatamento na Amazônia e a importância das áreas protegidas. **Estudos Avançados**, v.19, n.53, 2005.

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Técnicas de coleta, preservação e herborização do material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989, 61p.

FREITAS, E. C. S de; OLIVEIRA NETO, S. N. de; FONSECA, D. M. de; SANTOS, M. V.; LEITE, H. G.; MACHADO, V. D. Deposição de serapilheira e de nutrientes no solo em sistema agrossilvipastoril com eucalipto e acácia. **Revista Árvore**, v.37, n.3, p.409-417, 2013.

FULLER, A. M.; BRUN, A. "Social-economic aspects of pluriactivity in Western Europe", in Rural Change in Europe, **Arkleton Research**, p. 147-167, 1988.

FULLER, A. M. "Part-time farming and the farm family: a note for future research". **Sociologia Ruralis**, v. 23, n. 1, p. 5-9, 1983.

GASQUES, A. P.; MAGALHÃES, C. L.; RAULINO, E. W. H. As origens de Carlinda: do sonho do projeto de colonização para os projetos de assentamento da reforma agrária. **MTFAF- Mostra de trabalhos acadêmicos**, v.1, n.3, p. 109-113, 2015.

GUARIM NETO, G.; SANTANA, S. R.; SILVA, J. V. B. Notas Etnobotânicas de Espécies de Sapindaceae jussieu. **Acta Botanica Brasilica**, v. 14, n. 3, p. 327-334, 2000.

GURGEL GARRIDO, L. M. do A.; SIQUEIRA, A. C. M. de F.; CRUZ, S. F.; ROMANELU, R. C.; ETIORI, L. de C.; CRESTANA, C. de S. M.; SILVA, A. A. da; MORAIS, E.; ZANATIO, A. C. S.; SATO, A. S. Programa de melhoramento genético florestal do Instituto Florestal (acervo). **Instituto Florestal – Série Registros**, n. 18, p.1-53, 1997.

HARDY, K.; BUCKLEY, S.; COLLINS, M. J.; ESTALRRICH, A.; BROTHWELL, D.; COPELAND, L.; GARCÍA-TABERNERO, A.; GARCÍA-VARGAS, S.; LA RASILLA, M.; LALUEZA-FOX, C.; HUGUET, R.; BASTIR, M.; SANTAMARÍA, D.; MADELLA, M.; WILSON, J.; CORTÉS, A. F.; ROSAS, A. Neanderthal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. **Naturwissenschaften**, v. 99, p. 617–626, 2012.

HENRY, A. G.; BROOKSA, A. S.; PIPERNO, D. R. Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 02, p. 486 – 491, 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas do Desenvolvimento Humano no Brasil 2016**. Disponível em:<http://portal.cnm.org.br/sites/670/6745/AtlasIDHM2013_Perfil_Carlinda_mt.pdf> Acessado em: 18 Dez. 2016.

JESUS, Y. L.; LOPES, E. T.; COSTA, E. V. Descobrimos as Ciências na Cultura Indígena: Pinturas Corporais. **Revista Curiá: múltiplos saberes**, v. 1, n. 1, p. 16, 2015.

JOSHI, A. R.; JOSHI, K. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 175–183, 2000.

KOKUBUN, H. S.; ESPER, G. V. Z.; FRANCIOLLI, A. L. R.; DE OLIVEIRA, F. M.; SILVA, R. E. G.; MIGLINO, M. A. Estudo histológico e comparativo das papilas linguais dos cervídeos *Mazama americana* e *Mazama gouzoubira* por microscopia de luz e eletrônica de varredura. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.10, p.1061-1066, 2012.

LAURANCE, W. F.; VASCONCELOS, H. L. Consequências ecológicas da fragmentação florestal na Amazônia. **Oecologia Brasiliensis**, n.13, v. 3, p. 434-451, 2009.

LENTINI, M.; PEREIRA, D.; CELENTANO, D.; PEREIRA, R. **Fatos Florestais da Amazônia 2005**. Belém: Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia, 2005. 138p.

LOMBARDI, M. Êxodo rural cai pela metade em uma década, diz IBGE. **UOL notícias**. São Paulo, 19 de abril de 2011. Disponível em:<<http://noticias.uol.com.br/cotidiano/ultimas-noticias/2011/04/29/exodo-rural-cai-pela-metade-em-uma-decada-diz-ibge.htm>> acesso em 07 de out. 2016.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1, 3 ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 384 p., 2000.

LORENZI, H. E.; MATOS, F.J. de A. **Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512 p. 2002.

LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, n. 95, 255-273, 2005.

MARTÍNEZ, G. B.; MOURÃO JUNIOR, M.; BRIENZA JUNIOR, S. Seleção de ideótipos de espécies florestais de múltiplo uso em planícies fluviais do Baixo Amazonas, Pará. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 1, p. 65 -74, 2010.

OLIVEIRA, D. L. Viabilidade econômica de algumas espécies medicinais nativas do cerrado. **Estudos**, v. 38, n. 2, p. 301-332, 2011.

PARK, J. E.; LEE, J. Y.; KIM, H. G.; HAHN, T. R.; PAIK, Y. S. Isolation and characterization of water-soluble intermediates of blue pigments transformed from geniposide of *Gardenia jasminoides*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6511-6514, 2002.

PATZLAFF, R. G.; PEIXOTO, A. L. A pesquisa em etnobotânica e o retorno do conhecimento sistematizado à comunidade: um assunto complexo. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v.16, n.1, p.237-246, 2009.

PEREIRA, Z. V.; FERNANDES, S. S. L.; SANGALLI, A.; MUSSURY, R. M. Usos múltiplos de espécies nativas do bioma Cerrado no Assentamento Lagoa Grande, Dourados, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 2, p. 126-136, 2012.

PEREIRA, B. E.; DIEGUES, A. C. Conhecimento de populações tradicionais como possibilidade de conservação da natureza: uma reflexão sobre a perspectiva da etnoconservação. **Desenvolvimento e Meio ambiente**, n. 22, p. 37-50, 2010.

PERONI, N.; HANAZAKI, N.; BEGOSSI, A.; ZUCHIWSCHI, E.; LACERDA, V. D.; MIRANDA, T. M. Homegardens in a micro-regional scale: contributions to

agrobiodiversity conservation in an urban-rural contexto. **Ethnobiology and Conservation**, v. 5, n.6, p. 1-17, 2016.

RADFORD, A.E.; DICKISON, W.C.; MASSEY, J.R.; BELL, C.R. **Vascular plant systematics**. Harper & Row, New York. 1974. 891p.

RIVERO, S.; ALMEIDA, O.; ÁVILA, S.; OLIVEIRA, W.; Pecuária e desmatamento: uma análise das principais causas diretas do desmatamento na Amazônia. **Nova Economia**, v. 19, n. 1, p. 41-66, 2009.

ROCHA, A. F.; PAULA, D.C.J.; SOUZA, N. S.; SILVA SILVA, P.C.B.; MIRANDA, S. A.; ZAMADEI, T.; SOUZA, A. P.; MACHADO, N. G.; SANTOS, F.M.M.; NOGUEIRA, J.S.; NOGUEIRA, M. C. J. A. Variações microclimáticas de áreas urbanas em biomas no estado de Mato Grosso: Cuiabá e Sinop. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, Florianópolis, n. esp., p.246-257, 2015.

RODRIGUES, J. A. **Processo Histórico de Alta Floresta**. Secretaria Municipal de Educação/ P. M. A. F., p. 4-7, 1996.

SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. Polyembryony in angiospermous trees of the brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botanica Brasilica**. v. 15, n. 3, p. 369-378. 2001.

SALTOS, R. V. A.; VÁSQUEZ, T. E. R.; LAZO, J. A.; BANGUERA, D. V.; GUAYASAMÍN, P. D. R.; VARGAS, J. K. A.; PEÑAS, I. V. The use of medicinal plants by rural populations of the Pastaza province in the Ecuadorian Amazon. **Acta Amazônica**, v. 46, n. 4, p. 355-366, 2016.

SANTOS, M. J. C. dos; PAIVA, S. N. de. Os sistemas agroflorestais como alternativa econômica em pequenas propriedades rurais: estudo de caso. **Ciência Florestal**, v. 12, n. 1, p. 135-141, 2002.

SCHNEIDER, S. Teoria social, agricultura familiar e pluriatividade. **Revista Brasileira de Ciências Sociais**, v.18, n.51, p.99-122, 2003.

SELUCHINESK, R.D.C. **De heróis a vilões: imagem e auto-imagem dos colonos da Amazônia mato-grossense**. 2008. 263f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) - Centro de Desenvolvimento Sustentável da Universidade de Brasília. Brasília, 2008.

SILVA, D. B.; SALOMÃO, A. N.; CARVALHO, P. C. L.; WETZEL, M. M. V. S.; Jenipapo. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, 320 p., 2006.

SILVA, N.; LUCENA, R.F.P.; LIMA, J.R.F.; LIMA, G.D.S.; CARVALHO, T. K. N.; SOUSA JÚNIOR, S. P.; ALVES, C. A. B. Conhecimento e uso da vegetação nativa da caatinga em uma comunidade rural da Paraíba, Nordeste do Brasil. **Boletim Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 34, p.5-37, 2014.

SIVIERO, A.; DELUNARDO, T. A.; HAVERROTH, M.; OLIVEIRA, L.C.; MENDONÇA, A. M. S. Cultivo de espécies alimentares em quintais urbanos de Rio Branco, Acre, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 25, n.3, p. 549-556, 2011.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática - Guia ilustrado para a identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. Nova Odessa, Plantarum. 2008, 704p.

SOUZA, M. C. S. de; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Desenvolvimento de espécies arbóreas em sistemas agroflorestais para recuperação de áreas degradadas na floresta ombrófila densa, Paraty, RJ. **Revista Árvore**, v.37, n.1, p.89-98, 2013.

STRONG, J. N.; FRAGOSO, J. M. V. Seed Dispersal by *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata* in Northwestern Brazil. **Biotropica**, v. 38, n. 5, p. 683–686, 2006.

TIAGO, P. V. **Etnobotânica, Morfoanatomia, Histoquímica, Fitoquímica e diversidade genética de *Hymenaea courbaril* L., Leguminosae**. 2016. 122 f. Dissertação – Universidade do Estado de Mato Grosso, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Alta Floresta, 2016.

UEDA, S.; IWAHASHI, Y. Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa americana* and its cell cultures. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 6, p. 1677-1680, 1991.

UMETSU, R. K.; PEREIRA, N.; CAMPOS, E. M. F. P.; UMETSU, C. A.; MENDONÇA, R. A. M.; BERNASCONI, P.; CAMARGO, M. F. Análise morfométrica e socioambiental de uma bacia hidrográfica amazônica, Carlinda, MT. **Revista Árvore**, v.36, n.1, p.83-92, 2012.

WARD, M.; DICK, C. W.; GRIBEL, R.; LOWE, A. J. To self, or not to self... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, v. 95, p. 246 – 254, 2005.

**3.2. ANÁLISE MEIÓTICA, CARACTERIZAÇÃO E VIABILIDADE POLÍNICA
DE *Genipa americana* L.**

Resumo - (Análise meiótica, viabilidade polínica e caracterização do pólen de *Genipa americana* L.). *Genipa americana* L. é uma espécie da família Rubiaceae, popularmente conhecida como jenipapo. Este estudo objetiva avaliar o comportamento meiótico, estimar a viabilidade polínica e descrever a morfologia do pólen de *G. americana*, visando obter informações que possam auxiliar na manutenção e conservação da espécie em seu habitat natural. Foram coletados botões florais de 20 indivíduos nos municípios de Alta Floresta e Matupá, Mato Grosso, Brasil. A descrição da morfologia do pólen da espécie foi feita a partir da acetólise com comparação com a literatura especializada. A análise da meiose e pós-meióticos foi realizada com uso do corante carmim acético 2%. A viabilidade polínica foi estimada com os corantes Sudan IV, Reativo de Alexander, Lugol 1% e Carmim Acético 2%. *G. americana* é uma espécie com poucas irregularidades meióticas, com pólenes médios, 3-colporados e com exina reticulada. O corante que revelou o maior porcentual médio de viabilidade polínica para a espécie foi o carmim acético (97,96%). Os testes com corantes apresentam diferença significativa e revelam que a espécie apresenta alta viabilidade polínica e alta regularidade meiótica. Contudo, ainda é necessária a criação de meios de conservação e recuperação das áreas degradadas, pois ainda que haja grande quantidade de pólenes viáveis, não há garantia de sucesso na reprodução da espécie por fatores principalmente associados à fragmentação, estando a espécie exposta à deriva genética, redução do fluxo gênico e endogamia.

Palavras-chave: testes colorimétricos; palinologia; conservação.

Abstract - (Meiotic analysis, polynical viability and characterization of pollen of *Genipa americana* L.). *Genipa americana* L. is a species of Rubiaceae Family, popularly known as 'jenipapo'. This study aims to evaluate the meiotic behavior, estimate the pollen viability, and describe the morphology of *G. americana* pollen, aiming to obtain information that may help in the maintenance and conservation of the species in its natural habitat. Flower buds of 20 individuals were collected in Alta Floresta and Matupá municipalities, Mato Grosso State, Brazil. The description of the pollen morphology of the species was made from acetolysis compared to the specialized literature. The meiosis and post-meiotic analysis was performed using 2% acetic carmine dye. The pollen viability was estimated with sudan IV, Alexander reactive, lugol 1% and acetic carmin 2% dye. *G. americana* is a species with few meiotic irregularities, with medium, 3-colporate and exine cross-linked pollen. The dye that revealed the highest average percentage of pollen viability for the species was acetic carmine (97.96%). The tests with dyes present a significant difference, and show that the species presents high pollen viability and high meiotic regularity. However, it is still necessary to create means of conservation and recovery of degraded areas, because although there is a large number of viable pollens, there is no guarantee of success in the reproduction of the species by factors mainly associated with fragmentation, resulting in the fact that the species is exposed to genetic drift, reduction of gene flow and inbreeding.

Key-words: Colorimetric tests; Palynology; Conservation

Introdução

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma espécie nativa, da família Rubiaceae, com ocorrência em todos os países tropicais da América. No Brasil, ocorre em todos os Biomas e apresenta forte potencial econômico nos estados do Nordeste brasileiro, sendo utilizada a madeira em obras civis, artesanato e fabricação de móveis; o fruto é comestível *in natura* e na forma de doces e licores; e a planta toda tem poder medicinal (SOUZA e LORENZI, 2008; CARVALHO, 2003).

G. americana possui 11 pares cromossômicos ($2n=2x=22$), o que a diferencia de *G. infundibuliformis* ($2n=2x=20$) (PIEROZZI e MENDACOLLI, 1997; ZAPPI et al., 1995). O jenipapeiro é uma espécie funcionalmente dioica e sua polinização é realizada por grandes abelhas como a *Bombus morio* e a *Epicaris rustica flava* (GURGEL GARRIDO et al., 1997), embora Bawa e Bawa (1985) tenham observado também a polinização por pequenas e médias abelhas. Os frutos se desenvolvem ao longo de doze meses e as sementes do jenipapeiro são dispersas pela água (CRESTANA et al., 1992), peixes (ARAUJO & PINHEIRO, 2009) e mamíferos, como a anta (*Tapirus terrestris* L.) e veado-mateiro (*Mazama* sp.), conforme relatado pelos conhecedores de jenipapo entrevistados (Capítulo 1).

O jenipapeiro, assim como outras espécies nativas, desperta preocupação para sua conservação devido ao risco de perda de habitat por ações antrópicas. Crestana (2000) afirma que a espécie apresenta grande potencial regenerativo, porém são vulneráveis às condições adversas do meio na fase inicial do desenvolvimento e podem também sofrer interferência periódica das condições climáticas.

A fragmentação de áreas limita as funções ecológicas de espécies em geral (como mutualismo e interação entre espécies) e se tratando de florestas tropicais, a sensibilidade à fragmentação tem consequências mais sérias, devido à interação especializada das plantas com os dispersores de sementes e polinizadores e, reprodução alogâmica, com mecanismo auto-

incompatível (CASCANTE et al., 2002; LAURANCE e VASCONCELOS, 2009; LOWE et al., 2005; WARD et al., 2005).

A redução de habitat causa perda genética, altera padrões de distribuição e, havendo falhas na reprodução das espécies, pode ocorrer até mesmo a extinção. Populações pequenas ficam mais suscetíveis à deriva genética, pois têm seus mecanismos reprodutivos diretamente afetados, o fluxo de genes é modificado e a diversidade genética é limitada. A redução na disponibilidade de pólen aumenta a endogamia nas espécies (QUESADA et al., 2013).

O pólen é um corpúsculo formado dentro das anteras, que guarda o gametófito masculino e apresenta parede externa estável quimicamente e de morfologia variada. Esta parede tem função de proteger o gametófito masculino (resistindo a perda de água) e de reconhecer o estigma compatível para germinação e sua morfologia varia de espécie para espécie, com alterações na forma, tamanho, aberturas e ornamentação (SALGADO-LABORIAU, 1973; SOLER e NOLLA, 2002).

Estudos palinológicos são realizados com o objetivo de caracterizar pólen e identificar a qual espécie pertence contribuindo com a botânica, paleontologia, melissopalynologia entre outras áreas (WALKER e DOYLE, 1975; MARTINS et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2013; FERREIRA e ABSY, 2013; HAMID et al., 2015). Para análise da morfologia polínica é necessário a extração do conteúdo celular para melhor visualização da sexina e aberturas do pólen. Para isso, o método utilizado é o de acetólise proposto por Erdtman (1952), que consiste na utilização de anidrido acético e ácido sulfúrico.

Durante a microsporogênese e a microgametogênese (HORNER e PALMER, 1995) a célula-mãe do grão de pólen ou microsporócito passa por meiose após a citocinese originando quatro micrósporos ou grãos de pólen (RODRIGUES et al., 2004). Os produtos seguintes (pós-meióticos) podem permanecer unidos ou não: o grão de pólen isolado trata-se de uma mônade e, quando unidos, díades, tétrades ou políades (HESSE et al., 2009, citado por

MARTINS et al., 2010). Anormalidades nestas fases podem dar origem a polens inviáveis, o que priva as espécies de sucesso na reprodução.

A viabilidade do grão de pólen, assim como a receptividade do estigma, são fatores importantes para a germinação na flor (DAFNI, 1992). Havendo também influência no tamanho dos frutos, no número de sementes e na percentagem de frutos, que aumentam de acordo com a quantidade de grãos de pólen viáveis depositada sobre o estigma (STONE et al., 1995; RIGAMOTO e TYAGI, 2002; COELHO e BARBOSA, 2004).

Para avaliar a viabilidade dos pólenes há técnicas como germinação de tubo polínico *in vitro*, *in vivo* e testes colorimétricos. Os testes *in vitro* são realizados com preparo de meio de cultura; *in vivo* são feitos com a avaliação da fecundação dos pólenes depositados manualmente nas flores; e os testes colorimétricos são indicados para análise da constituição e integridade celular utilizando corantes (EINHARDT et al., 2006). Alguns corantes utilizados são Reativo de Alexander, Carmim acético, Lugol e Sudan IV. O Carmim acético indica a integridade dos cromossomos; o Lugol indica a presença de amido; o corante Sudan IV indica a presença de lipídios; a solução de Alexander reage com o protoplasma e a celulose da parede do pólen (DAFNI, 1992; MUNHOZ et al., 2008).

Assim, sendo o jenipapeiro uma espécie nativa que ocorre em baixa densidade, possui fecundação cruzada e atualmente apresenta indivíduos isolados nas paisagens em consequência da fragmentação de seus habitats, este estudo objetiva avaliar o comportamento meiótico, estimar a viabilidade e descrever a morfologia polínica de *G. americana*, visando obter informações que possam auxiliar na manutenção e conservação da espécie em seu habitat natural.

Material e Métodos

Área de Coleta

As coletas foram realizadas nos municípios de Alta Floresta e Matupá, no norte do estado de Mato Grosso, Brasil, (Figura 1), durante o período de floração, que acontece entre agosto e outubro na região de estudo, no ano de 2015. Os botões florais foram coletados de indivíduos de *G. americana* nas bordas dos fragmentos florestais, em áreas de uso urbano e agropecuário.

O município de Alta Floresta tem área territorial de 8.976.309 km², fica a 830 km de Cuiabá, e Matupá, localizada a 700 km de Cuiabá, tem área territorial de 5239.672 km² (IBGE, 2016). A vegetação local é caracterizada como floresta ombrófila aberta e densa e, floresta estacional semidecidual e decidual (LIRA, 2011). A temperatura anual da região varia de 19,6°C a 32,4°C. O clima é tropical chuvoso, tendo bem definidos o período de estiagem e de pluviosidade (TARIFA, 2011).

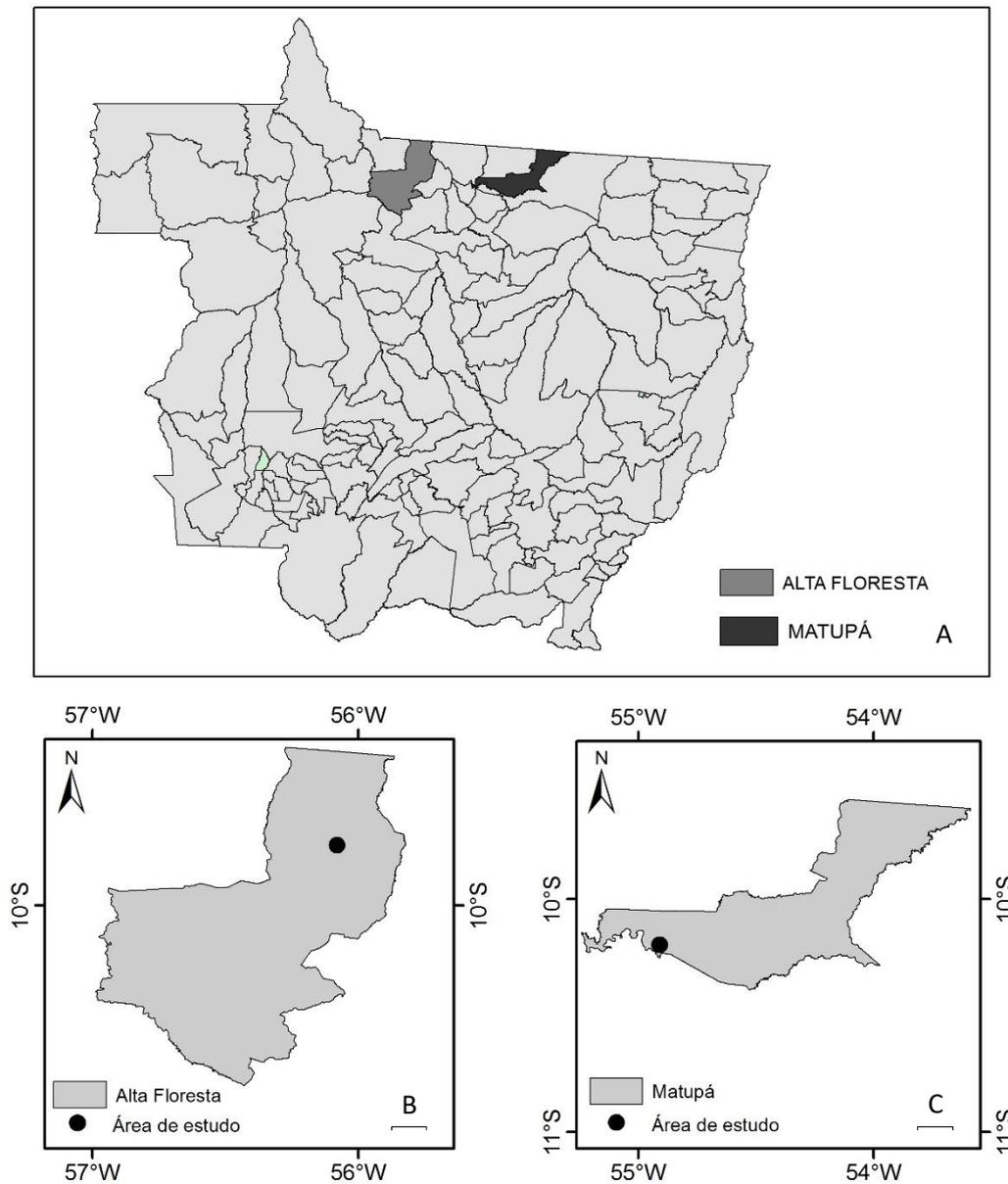


Figura 1. Locais de coleta de *G. americana*, nos quais foram coletados as flores e os botões florais, no município de Alta Floresta e Matupá, Mato Grosso, Brasil, 2015. A – O estado de Mato Grosso, B – O município de Alta Floresta, MT e C – O município de Matupá, MT.

Coleta do Material Vegetal

Foram coletados 15 botões florais de cada um dos 20 indivíduos de *G. americana*, funcionalmente masculinos, com diferentes tamanhos e em diferentes estádios de desenvolvimento (Figura 2). Os botões foram fixados em solução Carnoy (etanol: ácido acético, na proporção de 3:1) por um período de 24 horas. Em seguida, foram transferidos para álcool etílico 70% e conservados sob refrigeração (4° C) até a utilização para avaliação da morfologia, meiose, produtos pós-meiose e viabilidade polínica.



Figura 2. Botões e flores de *Genipa americana*. A – Botões florais de indivíduo masculino em diferentes estádios de desenvolvimento; B – Anteras e estigma; C – Flores masculinas de *G. americana*. Fonte: Ruzza, 2017.

Caracterização Morfológica do Pólen

Para análise da morfologia polínica foi utilizado o método de acetólise proposto por Erdtman (1952). As anteras coletadas de botões em pré-antese fixados em carnoy, foram colocadas em microtubos de 1,5 mL, contendo 1 mL de ácido acético por 20 minutos. Após este período, os tubos foram centrifugados a 3.000 rotações por minutos, durante 5 minutos.

O ácido acético foi descartado juntamente com as anteras, ficando no microtubo somente os pólenes que formaram um pellet. Posteriormente foi acrescentado no microtubo, sobre o pellet, 1 mL da solução acetólica na proporção 9:1 (anidrido acético: ácido sulfúrico), que promove a hidrólise ácida nos grãos de pólen para facilitar a visualização e reconhecimento da morfologia do pólen, removendo o conteúdo celular.

Em seguida os microtubos permaneceram em banho-maria por 10 minutos, a 100 ± 2 °C. O material foi centrifugado a 3.000 rotações por minuto, durante 5 minutos. Posteriormente a mistura acetólica foi descartada, sendo acrescentado ao microtubo 1 mL de água destilada mais 2 gotas de álcool etílico, o material foi novamente centrifugado por 5 minutos e o sobrenadante descartado. Depois foi acrescentado 1 ml de água destilada e glicerina na proporção de 3:1 por duas horas e então as lâminas foram preparadas. As lâminas foram montadas com gelatina glicerinada, segundo Kisser (1935, citado por ERDTMAN, 1952).

As mensurações foram realizadas em fotos dos polens, tiradas no mesmo dia da preparação das lâminas, com o intuito de evitar possíveis problemas de intumescimento e alterações no tamanho dos pólenes que podem ocorrer com o passar do tempo (FAEGRI e DEUSE, 1960; MELHEM e MATOS, 1972; SALGADO-LABOURIAU, 1973).

Foram mensurados o diâmetro polar e equatorial em vista equatorial (grão de pólen perpendicular à vista polar), do diâmetro equatorial em vista polar (grão de pólen com a área polar voltada para o observador) dos grãos de pólen, e da espessura das camadas da exina (sexina e nexina). Foram realizadas 25 medições de cada característica de no mínimo, cinco polens por lâmina, em um total de 25 grãos de pólen em vista equatorial e 25 grãos de pólen em vista polar.

Em relação ao seu tamanho, o grão de pólen foi classificado de acordo com Erdtman (1945), baseado no comprimento do eixo maior nas seguintes classes: muito pequenos ($< 10 \mu$), pequenos (10-25 μ), médios (25-50 μ), grandes (50-100 μ), muito grandes (100-200 μ) e gigantes ($> 200 \mu$).

Para classificar os grãos de pólen de acordo com sua forma, foi utilizada a relação entre o eixo polar e o eixo equatorial (P/E) em vista equatorial, segundo classificação proposta por Erdtman (1952) (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação dos grãos de pólen com base na razão P/E, segundo Erdtman (1952):

Classes de Pólen	
P/E	Denominação
0,50	Peroblato
0,50 – 0,74	Oblato
0,75 – 0,87	Suboblato
0,88 – 0,99	Oblato-esferoidal
1,00	Esférico
1,01 – 1,14	Prolato-esferoidal
1,15 – 1,33	Subprolato
1,34 – 2,00	Prolato
2,00	Perprolato

Subesferoidal

As descrições polínicas e as terminologias adotadas foram baseadas no glossário de Barth (1965) e Punt et al. (2007). Os pólenes foram classificados pelo Índice de Área Polar (IAP) proposto por Barth e Melhem (1988, citado por MARTINS et al., 2010) (Tabela 2.)

Tabela 2. Classificação dos grãos de pólen em relação ao índice de área polar (IAP):

Denominação	Intervalo do I.A.P.
Sem área polar	0
Área polar muito pequena	<0,25 (abertura muito longa)
Área polar pequena	0,25 – 0,50 (abertura longa)
Área polar grande	0,50 – 0,75 (abertura curta)
Área polar muito grande	>0,75 (abertura muito curta)

As imagens dos grãos de pólen foram capturadas em fotomicroscópio Leica DMLB, com o auxílio do programa Leica IM50 e posteriormente analisados e medidos utilizando-se o programa Anati Quanti 2[®] UFV (AGUIAR et al., 2007).

Análise do Comportamento Meiótico

Duas anteras por botão floral de cada indivíduo (fixados na solução Carnoy) foram maceradas sobre uma lâmina com corante Carmim acético 2%. A seguir, o material foi observado em microscópio óptico e as diferentes fases

da meiose foram analisadas e fotodocumentadas. As células em estádios normais e as irregularidades meióticas foram fotodocumentadas.

Para a estimativa do índice meiótico (IM), foram contabilizados 1.500 produtos pós-meióticos, sendo contado 6 lâminas, com 250 células por lâmina. Tétrade com quatro células de mesmo tamanho foi considerada normal e qualquer desvio (mônade, díade, tríade e políade) foi considerado como anormal. Para estimar o índice meiótico (IM), foi utilizada a expressão proposta por Love (1951), onde:

$$IM = [(\text{número total de tétrades normais} / \text{número total de mônade} + \text{díades} + \text{tríades} + \text{tétrades} + \text{políade})] \times 100.$$

O IM superior a 90% é considerado estável.

O índice de recombinação foi feito com a análise de 95 células, segundo Darlington (1958) na fase de diacinese, utilizando a fórmula:

$$IR = ([\sum n^\circ \text{ total de quiasmas} / n^\circ \text{ de células analisadas}] + \text{valor de } n) \times 100.$$

Sendo n o número haploide da espécie.

Os dados das avaliações foram submetidos à estatística descritiva e as análises foram feitas com auxílio do programa GENES (CRUZ, 2006).

Viabilidade Polínica

Os testes colorimétricos foram realizados utilizando cinco diferentes corantes: Carmim acético 2%, Lugol 1%, Sudan IV e Reativo de Alexander.

Para o preparo das lâminas duas anteras por botão floral, previamente fixado em solução Carnoy, foram maceradas sobre uma lâmina em gotas de cada corante. Foram contadas 250 células por lâmina. Para cada corante foram preparadas 10 lâminas, totalizando 2.500 pólenes por corante.

A análise dos dados foi realizada por intervalo de confiança para proporção com auxílio do programa GENES (CRUZ, 2006), empregando o método de amostragem simples ao acaso.

Resultados

Caracterização Morfológica do Pólen

Os grãos de polens de *G. americana* são 3-colporados, com 31,32 - 43,55 μm de diâmetro equatorial e 28,28 - 44,49 μm de diâmetro polar. Estando entre 25 μm e 50 μm , são considerados como médio.

A exina tem em média 2,94 μm , com sexina reticulada (Figura 3). Os pólenes de *G. americana* são classificados como oblato-esferoidal e apresentam área polar pequena (Tabela 3.)

Tabela 3. Medidas dos pólenes de *Genipa americana* L.

	$x \pm sx$	IC 95%	CV %
Diâmetro polar (VE)	27,44 - 44,35 μm	37,45 μm	6,11
Diâmetro equatorial (VE)	31,32 - 43,55 μm	38,51 μm	2,74
Diâmetro polar	28,28 - 44,49 μm	34,88 μm	3,39
Nexina	1,20 - 2,52 μm	1,65 μm	0,31
Sexina	1,23 - 2,02 μm	1,65 μm	0,23
Exina	2,4 - 3,87 μm	2,94 μm	0,33
P/E	0,97 μm		Oblato-esferoidal
I.A.P	0,36 μm		Área polar pequena

P/E = Razão entre eixo polar sobre diâmetro equatorial; I.A.P.= Índice de área polar; x: média; sx: desvio padrão da média; IC: intervalo de confiança; CV (%): coeficiente de variação; VE: Vista Equatorial.

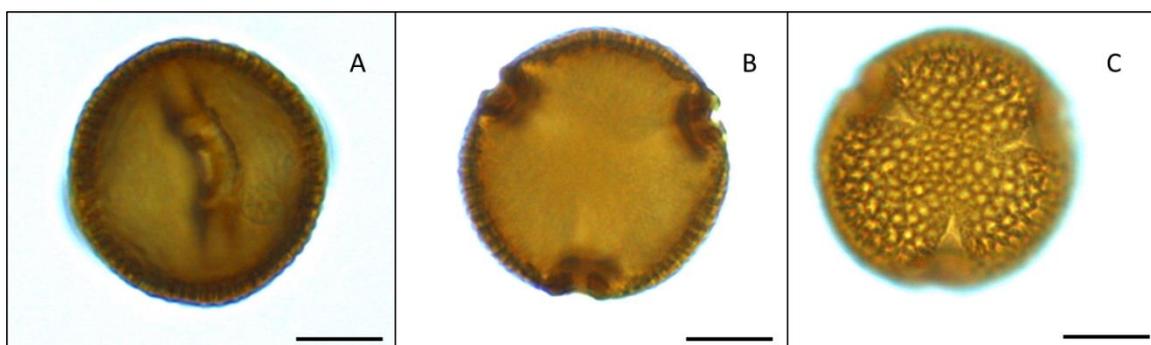


Figura 3. Fotomicrografias dos grãos de pólen de *G. americana*. A) Vista polar mostrando os colpos; B) Vista equatorial; C) Detalhe da superfície. Barra= 10 μm .

Comportamento Meiótico

Na análise meiótica, foi observado nas células em diacinese 11 pares de cromossomos ou bivalentes (Figura 4).

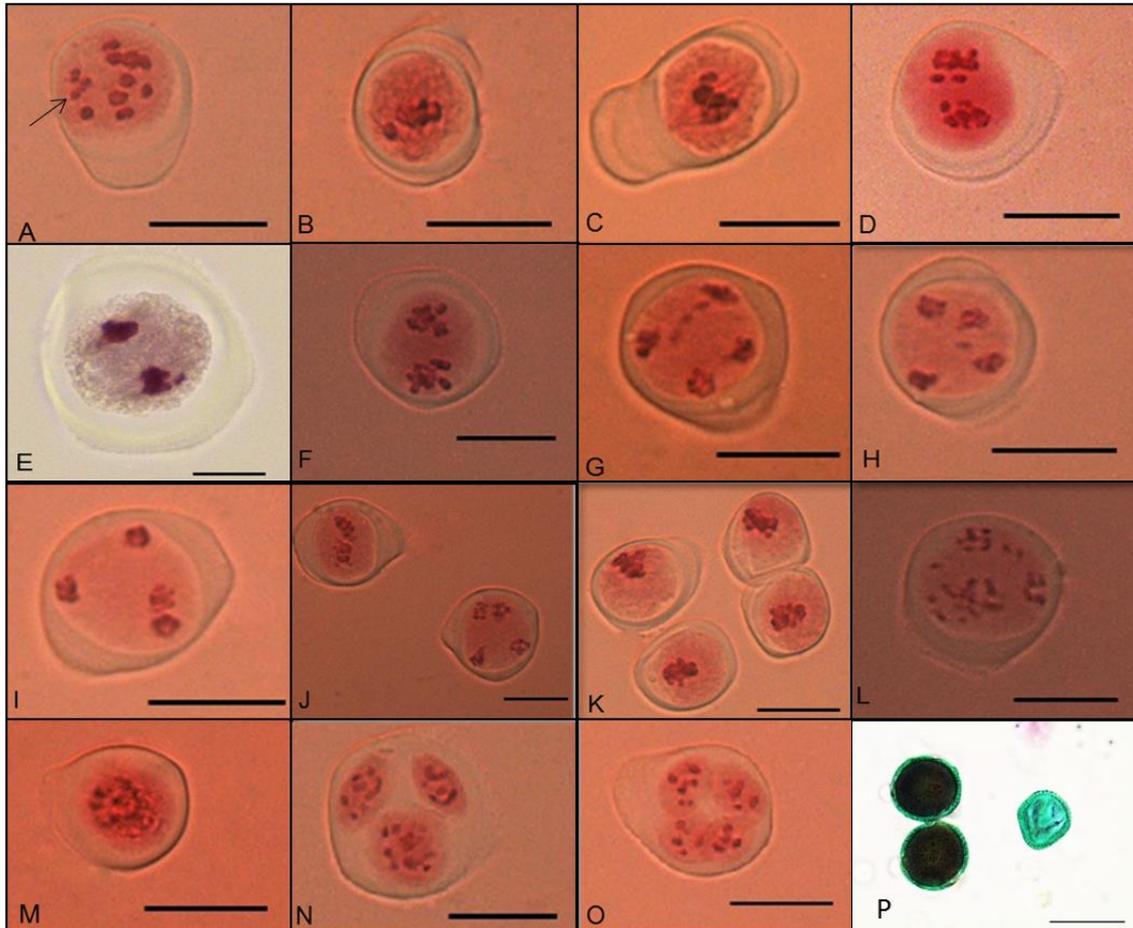


Figura 4. Meiose em *Genipa americana* L. **A** - Diacinese apresentando 11 pares cromossômicos, observando-se 10 bivalentes em configuração meiótica do tipo anel e um bivalente em bastão (seta). **B** - Metáfase I evidenciando um cromossomo se separando precocemente (seta). **C** - Metáfase I evidenciando as fibras do fuso (seta). **D** - Anáfase I apresentando dois cromossomos retardatários (seta). **E** - Final da telófase I e início da metáfase II, evidenciando um cromossomo se afastando precocemente (seta). **F-G** - Anáfase II apresentado cromossomos retardatários e falta de sincronia na célula. **H** - Anáfase II com um cromossomo retardatário (seta). **I** - Anáfase II evidenciando falta de sincronia na célula. **J** - Falta de sincronia na divisão celular. **K** - Desuniformidade da placa equatorial metafásica. **L** - Segregação irregular dos cromossomos. **M** - Mônade. **N** - Tríade. **O** - Tétrade normal. **P** - Grão de pólen viável (escuros = púrpura) e inviável (claro = verde). Barra (A-D e F-O) = 20 µm; Barra (E) = 10 µm; Barra (P) = 50 µm.

Observou-se a ocorrência de um par de cromossomos em bastão (“rod”), que caracteriza a ocorrência de um quiasma, e dez pares em anel (“ring”), que caracteriza a ocorrência de dois quiasmas, na maioria das células (Figura 4A). Entretanto, foram observadas células com até três cromossomos em bastão e oito em anéis. O Índice de Recombinação (IR) para *G. americana* foi de 19,71% (Tabela 4).

Tabela 4. Quiasmas observados em *G. americana* e cálculo do Índice de Recombinação.

Quiasmas	Total
Anel (ring)	648
Bastão (rod)	179
Células totais	95
IR= (\sum quiasmas/células totais) + n	19,71%

A meiose do jenipapeiro apresentou-se regular, porém foram observadas algumas anormalidades. As anormalidades predominantes constituíram-se de cromossomo com segregação irregular como cromossomo adiantado em metáfase I e II, cromossomo retardatário em anáfase I e II.

Observaram-se, ainda, células apresentando assincronia celular na meiose II, em que 30,48 % das células apresentaram um dos seus grupos de cromossomo em anáfase II e telófase II. A espécie *G. americana* apresentou 76,92 % de células normais (Tabela 5).

Tabela 5. Percentagem de anormalidades observadas na meiose de *G. americana*.

Anormalidade	% de anormalidade
Segregação precoce (metáfase I e II)	10,97%
Cromossomo retardatário (anáfase I e II)	58,55%
Divisão assincronica	30,48%
Número de células anormais	82
Total de células analisadas	259
% de células anormais	31,66%

Pós-Meióticos

A análise dos produtos pós-meióticos indicou que os níveis de irregularidades meióticas para *G. americana* são baixos, uma vez que o IM foi de 98,80%. Díades e poliádes não foram encontradas (Tabela 6).

Tabela 6. Produtos pós-meióticos de *G. americana* observados em lâminas com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 40x.

Repetição	Normais	Tríades	Mônades	Total	IM
1	243	7	0	250	97,2
2	248	2	0	250	99,2
3	246	3	1	250	98,4
4	248	2	0	250	99,2
5	249	0	2	250	99,6
6	248	0	2	250	99,2
Total	1482	14	5	1500	98,8
Índice Meiótico (IM)	98,80%				

Viabilidade Polínica

O teste com o corante Sudan IV corou de vermelho 88,04% dos grãos, indicando a presença de lipídios. Quanto à integridade da cromatina, observou-se que 97,96% dos grãos de pólen foram corados de vermelho intenso com Carmim acético (Figura 5).

O teste com o corante reativo de Alexander indicou que 81,52% dos grãos possuíam protoplasma e parede celular íntegras, indicados pela coloração violeta do protoplasma e com contorno verde da parede celular. Os grãos de pólen, que não possuíam protoplasma e parede celular íntegra, apresentaram tonalidade esverdeada. O teste com lugol revelou a presença de amido em mais de 92,56% dos grãos de pólen, que ficaram corados de marrom (Figura 5).

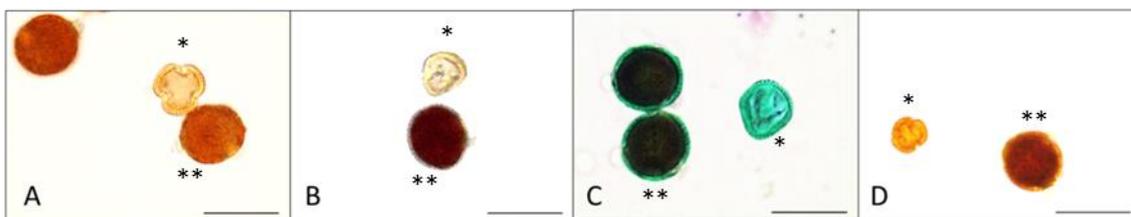


Figura 5. Testes colorimétricos com grãos de pólen de *G. americana*. A- Sudan IV. B- Carmim acético. C- Alexander. D- Lugol. Barra = 50 μ m. * Pólen inviável; ** Pólen viável.

Conforme demonstrado na Tabela 7, o corante carmim acético revelou o maior percentual médio de viabilidade em *G. americana*, porém não diferindo estatisticamente das médias reveladas pelos corantes lugol e sudan IV.

Tabela 7. Percentual médio de viabilidade dos pólenes de *G. americana* resultante dos testes colorimétricos.

Corantes	% de grão corados
Carmim acético 2%	97,96 a
Lugol 1%	92,56 ab
Sudan IV	88,04 ab
Reativo de Alexander	81,52 b

Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 5\%$).

Discussão

Os polens de jenipapeiro são semelhantes aos polens de espécies de Rubiaceae *Psychotria carthagenensis* Jacq, *Chiococca alba* (L.) Hitchc., *Declieuxia fruticosa* Kuntze e *Ixora coccinea* L. (BAUERMANN et al., 2009; SILVEIRA JÚNIOR et al., 2012; DUTRA et al., 2014; RADAESKI et al., 2014;) diferenciando-se umas das outras em tamanho e ornamentação.

As peculiaridades nas características polínicas é o que permite a fecundação da espécie pelo pólen adequado, como exposto por Soler e Nolla (2002) sobre a parede celular dos polens. Conforme Moore e Webb (1978) citado por Martins et al. (2010), nos espaços da ornamentação do pólen ficam armazenados compostos químicos (liberados a partir da desintegração de células do tapete), chamados de proteínas de “reconhecimento”, que são responsáveis pela germinação do pólen no estigma compatível. Os polens de jenipapeiro apresentaram ornamentação da sexina reticulada.

A nexina e sexina de *G. americana* apresentaram semelhanças nas medidas, constituindo exina com espessura superior a 2 μm . O pólen de *G. americana* é médio, oblato-esferoidal, tricolporado. A área polar é pequena, correlacionada ao tipo de abertura longa. Os caracteres analisados neste estudo corroboram com os resultados encontrados por Matos et al. (2014) sobre o jenipapeiro.

Parte do sucesso da reprodução das espécies vegetais está relacionado a sua viabilidade polínica, que é resultante da regularidade meiótica. As células em diacinese apresentaram 11 pares de cromossomos, confirmando que a espécie *G. americana* é diploide e apresenta $2n=2x=22$ cromossomos ($n=11$), conforme relatado por Pierozzi e Mendacolli (1997).

Em *G. americana* foi observado alguns casos de separação precoce de cromossomo, assim como cromossomos retardatários, além de não sincronia na divisão celular. Mas ainda assim, *G. americana* apresentou índice meiótico superior a 90%, em oposição ao observado na espécie *Cephaelis ipecacuanh* (Rubiaceae), que teve muitas irregularidades meióticas, apesar da alta viabilidade polínica (SOUZA et al., 2006).

Os corantes Lugol 1% e Sudan IV revelaram respectivamente a presença de amido e lipídeos em mais de 85% dos polens de jenipapeiro. Porém, embora muitas vezes utilizados para estimar a viabilidade polínica, alguns estudos não os indicam devido à possibilidade de superestimar os dados de viabilidade, já que um pólen inviável pode apresentar estas substâncias também (EINHARDT et al, 2006; MUNHOZ et al., 2008).

Para viabilidade polínica, os testes colorimétricos são apontados por diversos estudos algumas vezes por praticidade na diferenciação entre os polens viáveis e os polens inviáveis, outras vezes por substâncias presentes nos polens que reagem com o corante: Lugol (amido), Sudan IV (lipídeos), Carmim acético (integridade da cromatina) e Reativo de Alexander (integridade do núcleo) (ALEXANDER, 1969; DAFNI, 1992; KEARNS e INOUE, 1993; STONE et. al., 1995; AULER et al., 2006).

O Carmim acético é indicado para observação da integridade da cromatina (PAGLIARINI e POZZOBON, 2004) e conforme observado, 97,96% dos polens de *G. americana* revelaram cromatina íntegra. Resultados de estudos com carmim acético demonstram que a alta viabilidade polínica foi encontrada em espécies de Rubiaceae como *Ferdinandusa speciosa* Pohl (CASTRO e OLIVEIRA, 2001) e *Manettia cordifolia* Mart. (CONSOLARO et al., 2005), assim como o encontrado neste estudo para *G. americana*.

O Reativo de Alexander revelou a menor percentagem de viabilidade para *G. americana*: 81,52% de polens viáveis, revelando alta viabilidade polínica da espécie. Este corante é utilizado para avaliar os pólenes abortados ou não abortados, refletem a integridade do núcleo e da membrana plasmática, por ter em sua composição o verde-malaquita e a fucsina ácida. Geralmente, além de ser indicado por estimar os polens com ausência de núcleo (inviáveis), também é um corante defendido por diferenciar de forma clara, um pólen viável de não viável (AULER et al., 2006; HISTER e TEDESCO, 2016), além de ser indicado por Munhoz et al. (2008) como ferramenta para os taxonomistas na identificação de híbridos, por eles não apresentarem núcleo ou apresentarem núcleo alterado.

G. americana apresentou viabilidade polínica acima de 80% quando submetidos a teste colorimétrico com os quatro corantes, revelando que *G. americana* apresenta viabilidade polínica alta. Conforme Souza et al. (2002), a viabilidade polínica pode ser considerada alta para valores superiores a 70%. A ocorrência de irregularidades meióticas e posteriormente o resultado de alta viabilidade polínica, indicam que possa ter havido correções das falhas durante a meiose por mecanismos de reparo das células, os checkpoints (SUBRAMANIAN e HOCHWAGEN, 2014).

Contudo, mesmo com percentagem de regularidade meiótica e viabilidade polínica alta, ainda deve haver preocupação com fatores externos que estejam diretamente ligados ao sucesso de reprodução da espécie, como por exemplo, a não sincronia no período de floração entre os indivíduos da espécie, a fragmentação (BERNACCI et al., 2006), a distribuição da espécie, e falta de polinizadores (GIANNINI et al., 2012). Uma vez que a matriz de paisagem onde se encontram os indivíduos de *G. americana* em estudo é atualmente muito fragmentada, oferecendo resistência ao fluxo de pólenes e polinizadores.

Algumas formas de reduzir os impactos da fragmentação é a criação de corredores ecológicos, utilização de paisagismo agroecológico, a implantação de sistemas agroflorestais e silviculturas (FERNANDES e NAIR, 1986; DOS SANTOS e PAIVA, 2005; TABARELLI et al., 2005; DIAS-FILHO, 2006; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2013), que permite não somente a passagem de polinizadores de uma população para outra, aumentando as chances de reprodução, como também a de dispersores de sementes, fazendo a regulação de fluxo gênico. Neste caso, a espécie *G. americana* pode ser utilizada juntamente com outras fruteiras nativas, para compor essas estratégias atraindo, portanto, animais que diretamente atuarão polinizando e dispersando sementes.

Conclusão

Os grãos de pólen de *G. americana* são médios, oblato-esferoidal, 3-colporados com exina reticulada. Os testes com corantes apresentam diferença significativa, e revelam que a espécie apresenta alta viabilidade polínica e alta regularidade meiótica.

Contudo, ainda é necessária a criação de meios de conservação e recuperação das áreas degradadas (como conservação de matas densas, criação de corredores ecológicos, utilização de espécies nativas em paisagens e redução no uso de inseticidas e poluentes), pois ainda que haja grande quantidade de pólenes viáveis, não há garantia de sucesso na reprodução da espécie, por fatores principalmente associados à fragmentação, estando a espécie exposta a deriva genética, redução do fluxo gênico e endogamia.

Referências Bibliográficas

AGUIAR, T. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; AZVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. Anati quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 649-659, 2007.

ALEXANDER, M. P. Differential staining of aborted and non aborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, p. 117-122, 1969.

ARAUJO, N. A. de; PINHEIRO, C. U. B. Relações ecológicas entre a fauna ictiológica e a vegetação ciliar da região lacustre do baixo pindaré na baixada maranhense e suas implicações na sustentabilidade da pesca regional. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 22, n. 1, p. 55-68, 2009.

AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.

BARTH, O. M. Catálogo sistemático dos polens das plantas arbóreas do Brasil Meridional – Glossário Palinológico. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 63, p. 133-162, 1965.

BAUERMANN, S. G.; EVALDT, A. C. P.; BRANCO, S. C. Atlas de pólen e esporos do Vale do Rio Caí, RS, Brasil. **Revista Árvore**, v. 33, n.5, p.895-905, 2009.

BAWA, K. S.; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive Biology of Tropical Lowland Rain Forest Trees. I. Sexual Systems and Incompatibility Mechanisms. **American Journal of Botany**, v. 72, n. 3, p. 331-345, 1985.

BERNACCI, L. C.; FRANCO, G. A. D. C.; ÀRBOCZ, G. F.; CATHARINO, E. L. M.; DURIGAN, G.; METZGER, J. P. O efeito da fragmentação florestal na composição e riqueza de árvores na região da Reserva Morro Grande (Planalto de Ibiúna, SP). **Revista do Instituto Florestal**, v. 18, n. 1, 121-166, 2006.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**: Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, vol. 1. Brasília, DF: Embrapa informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1.039 p.

CASTRO, C. C. D.; OLIVEIRA, P. E. A. Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl (Rubiaceae) in southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, n.2, p.167-172, 2001.

CASCANTE, A. M.; QUESADA, J.; LOBO, A.; FUCHS, E. J. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree, *Samanea saman*. **Conservation Biology**, v. 16, 137-147, 2002.

COELHO, C. P.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull. Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. **Acta Botânica Brasileira**, v.18, n.3, p. 481-489, 2004.

CONSOLARO, H.; SILVA, E. B.; OLIVEIRA, P. E. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

CRESTANA, C. de S. M.; BATISTA, E. A.; MARIANO, G.; KAGEYAMA, P. Y. Fenologia da frutificação de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar do Rio Moji Guaçu, SP. **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, v1, n. 45, p. 31-34, 1992.

CRESTANA, C. de S. M. Estrutura populacional de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata riparia do Rio Moji-Guaçu, em Conchal-SP. **Revista Instituto Florestal**, v. 2, n. 12, p. 105-117, 2000.

CRUZ, C.D. **Programa GENES**: análise multivariada e simulação. Viçosa: UFV, 175p. 2006.

DAFNI, A. **Pollination ecology**: a practical approach. Oxford University Press Inc. New York, 1ª. Ed., 250p., 1992.

DARLINGTON, C. D. **Evolution of genetics systems**. 2ª. ed. Edinburgh: Oliver and Boyd, 1958. 256 p.

DIAS-FILHO, M. B. Sistemas silvipastoris na recuperação de pastagens tropicais degradadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. Special Suppl, p. 535-553, 2006.

DOS SANTOS, M. J. C.; DE PAIVA, S. N. Os sistemas agroflorestais como alternativa econômica em pequenas propriedades rurais: estudo de caso. **Ciência Florestal**, v. 12, n. 1, p. 135-141, 2005.

DUTRA, F. V.; DORETO, H. dos S.; RIBEIRO, P. C.; GASPARINO, E.C. Morfologia polínica em espécies ornamentais de Asteraceae, Ericaceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Malvaceae e Rubiaceae. **Nucleus**, v.11, n.1, p. 33-44, 2014.

EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. B. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 5-7, 2006.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms**. Almqvist e Wiksell, Stockholm, 1952. 539p.

ERDTMAN, G. Pollen morphology and plant taxonomy. III. *Morina* L. With an addition on pollenmorphological terminology. **Svensk Botanisk Tidskr**, v. 39, p. 279-285, 1945.

FAEGRI, K.; DEUSE, P. Size variation in pollen grains with different treatment. **Pollen et Spores**, v. 2, n. 2, p. 293-298, 1960.

FERNANDES, E. C.; NAIR, P. R. An evaluation of the structure and function of tropical homegardens. **Agricultural systems**, v. 21, n.4, p. 279-310, 1986.

FERREIRA, M. G.; ABSY, M. L. Pollen analysis of the post-emergence residue of *Melipona (Melikerria) interrupta latreille* (Hymenoptera: Apidae) bred in the central Amazon region. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 709-713, 2013.

GIANNINI, T. C.; ACOSTA, A. L.; GARÓFALO, C. A.; SARAIVA, A. M.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Pollination services at risk: bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. **Ecological Modelling**, v. 244, p.127-131, 2012.

GUIMARÃES, J. T. F.; COHEN, M. C. L.; FRANÇA, M. C.; ALVES, I. C. C.; SMITH, C. B PESSENDA, L. C. R.; BEHLING, H. An integrated approach to relate Holocene climatic, hydrological, morphological and vegetation changes in the southeastern Amazon region. **Vegetation History and Archaeobotany**, v. 22, p. 185–198, 2013.

GURGEL GARRIDO, L. M. do A.; SIQUEIRA, A. C. M. de F.; CRUZ, S. F.; ROMANELU, R. C.; ETIORI, L. de C.; CRESTANA, C. de S. M.; SILVA, A. A. da; MORAIS, E.; ZANATIO, A. C. S.; SATO, A. S. **Programa de melhoramento genético florestal do Instituto Florestal**. Instituto Florestal – Série Registros, n. 18, p.1-53, 1997.

HAMID, K. A.; MOHD, A. F.; MOHD ZOHDI R.; ESHAK, Z.; OMA, R. Pollen analysis of selected Malaysian Honey. **Academic Journal of Entomology**, v. 8, n.2, p.99-103, 2015.

HISTER, C. A. L; TEDESCO, S. B. Estimation of pollen viability of strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) through distinct staining methods. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 18, n. 1, p. 135-141, 2016.

HORNER, H. T.; PALMER, R. G. Mechanisms of genetic male sterility. **Crop Science**, v. 35, p. 1527-1535. 1995.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia Estatística**. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=510025>>. Acesso em: 15 de dez. de 2016.

KEARNS, C. A.; INOUYE, D. **Techniques for pollinations biologists**. Niwot, Colorado: University press of Colorado. 1993. 579p.

LAURANCE, W. F.; VASCONCELOS, H. L. Conseqüências ecológicas da fragmentação florestal na Amazônia. **Oecologia Brasiliensis**, v. 3, n.13, p. 434-451, 2009.

LIRA, G. **Conhecendo o Estado de Mato Grosso** – IV Microrregião de Alta Floresta, Mato Grosso, 2011. 38p.

LOVE, R. M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian wheats. **Agronomy Journal**, v.43, p.72-76. 1951.

LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, v. 95, n. 4, p. 255-273, 2005.

MARTINS, K.C. **Morfologia polínica**: aplicações, estudos e metodologias, Rio de Janeiro: CBJE, 2010, 75p.

MATOS, M. N. F.; MADURO, C. B.; COSTA, C. S.; SILVA, S. J. R. Caracterização polínica das plantas lenhosas do Bosque dos Papagaios, Boa Vista, Roraima, norte do Brasil. **Boletim do Museu do Integrado de Roraima**, v. 8, p. 19-41, 2014.

MELHEM, T. S.; MATOS, M. E. R. Variabilidade de forma dos grãos de pólen de *Eriope crassipes* Benth. Labiatae. **Hoehnea**, v. 2, p. 1-10, 1972.

MUNHOZ, M.; LUZ, C. F. P.; MEISSNER FILHO, P. E.; BARTH, O. M.; REINERT, F. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, n.2, p.209-214, 2008.

OLIVEIRA JÚNIOR, C. J. F.; GONÇALVES, F. S.; COUTO, F.; MATAJS, L. Potencial das espécies nativas na produção de plantas ornamentais e paisagismo agroecológico. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.8, n. 3, p. 190-200, 2013.

PAGLIARINI, M. S.; POZZOBON, M. T. **II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – DF. 2004.

PIEROZZI, N. I.; MENDAÇOLLI, S. L. J. Karyotype and C-band analysis in two species of *Genipa* L. (Rubiaceae, Gardenieae Tribe). **Cytologia**, n. 62, p. 81-90, 1997.

PUNT, W.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 143, p. 1-81, 2007.

QUESADA, M.; HERRERÍAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. A.; SÁNCHEZ-MONTOYA, G.; ROSAS, F.; AGUILAR, R. Long-term effects of habitat fragmentation on mating patterns and gene flow of a tropical dry forest tree, *Ceiba aesculifolia* (Malvaceae: Bombacoideae). **American Journal of Botany**, v. 6, n. 100, p. 1095–1101, 2013.

RADAESKI, J. N.; EVALDT, A. C. P.; BAUERMANN, S. G.; LIMA, G. L. Diversidade de grãos de pólen e esporos dos Campos do sul do Brasil: descrições morfológicas e implicações paleoecológicas. **Iheringia**, v. 69, n. 1, p. 107-132, 2014.

RIGAMOTO, R. R.; TYAGI, A. P. Pollen fertility status in coastal plant species of rotuma Island. **South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences**, v. 20, p. 30-33, 2002.

RODRIGUES, L. R.; DE OLIVEIRA, J. M. S.; MARIATH, J. E. A. Anatomia vegetal aplicada ao estudo de sistemas androgênicos in vitro. **Revista Brasileira de Biociências/Brazilian Journal of Biosciences**, v. 2 n. 3/4 p. 159-167, 2004.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. **Contribuição à palinologia dos cerrados. Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 1973. 291p.

SILVEIRA-JÚNIOR, C. E. A.; SABA, M. D.; JARDIM, J. G. Pollen morphology of Rubiaceae Juss. species occurring in an area of caatinga (dryland) vegetation in Bahia State, Brazil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 26, n. 2, p. 444-455, 2012.

SOLER J. B.; NOLLA J. M. R. Introducción. In: VALERO-SANTIAGO, A. L., CADAHIA-GARCÍA, A. **Polinosis, Polen y Alergia**, España: MRA ediciones, 2002.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. Ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704p.

SOUZA, M. M.; MARTINS, E. R.; PEREIRA, T. N. S.; OLIVEIRA, L. O. Reproductive studies On ipecac (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich; Rubiaceae): meiotic behavior and pollen viability. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n.1a, p. 151-159, 2006.

SOUZA, M. M. de; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n.6, p.1209-1217, 2002.

STONE, J.L.; THOMSON, J.D.; DENT-ACOSTA, S.J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. **American Journal of Botany**, v. 82, p. 1186-1197, 1995.

SUBRAMANIAN, V.V.; HOCHWAGEN, A. The meiotic checkpoint network: step-by-step through meiotic prophase. **Cold Spring Harb Perspect Biology**, v. 6, n. 10, p.1-26, 2014.

TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J.; HIROTA, M.; BEDE, L. Challenges and opportunities for biodiversity conservation in the Brazilian Atlantic Forest. **Conservation Biology**, v. 19, n.3, p.695-700, 2005.

TARIFA, J. R. Alterações climáticas resultantes da ocupação agrícola no Brasil. **Revista do Departamento de Geografia**, v. 8, p. 15-27, 2011.

WALKER, J. W.; DOYLE, J. A. The bases of angiosperm phylogeny: palynology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.62, p. 664-723, 1975.

WARD, M.; DICK, C. W.; GRIBEL, R.; LOWE, A. J. To self, or not to self... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, v. 95, p. 246 – 254, 2005.

ZAPPI, D. C.; SEMIR, J.; PIEROZZI, N. I. *Genipa infundibuliformis* sp. nov. and notes on *Genipa americana* (Rubiaceae). **Kew Bulletin**, v. 50, n. 4, p. 761-771, 1995.

**3.3. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE
Genipa americana L. NO NORTE DE MATO GROSSO, BRASIL**

Resumo – (Diversidade genética e estrutura populacional de *Genipa americana* L., no norte de Mato Grosso, Brasil.). *Genipa americana* L. (Rubiaceae) é uma espécie com ocorrência natural na região amazônica, podendo estar sujeita a endogamia por se encontrar em ambientes fragmentados. O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional de três populações naturais de *G. americana* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores SSR. A extração de DNA ocorreu pelo método CTAB com modificações. Foram utilizados seis primers SSR desenvolvidos para a espécie. Foi estimada a frequência alélica, heterozigosidade observada e esperada, PIC (Conteúdo de informação de polimorfismo) e Índice de Fixação. Para inferir sobre a estrutura genética das populações por meio da decomposição total nos componentes entre e dentro de populações foi feita a Análise de Variância Molecular e Análise de Coordenadas Principais. Foi construído um dendrograma e posteriormente inferido o número de grupos (k) mais provável. As análises de agrupamento não corresponderam às procedências geográficas dos indivíduos. A maior parte da variabilidade genética encontra-se dentro das populações. As três populações apresentaram alta diversidade genética. Propõe-se que os fragmentos com ocorrência de indivíduos de *G. americana* sejam mantidos para manutenção da diversidade genética da espécie e conservação da fauna.

Palavras-chave: jenipapeiro; SSR; variabilidade genética; espécie nativa.

Abstract - (Genetic diversity and population structure of *Genipa americana* L., north of Mato Grosso State, Brazil.). *Genipa americana* L. (Rubiaceae) is a species with natural occurrence in the Amazon region, and may be subject to inbreeding because it occurs in fragmented environments. The objective of this study was to evaluate the genetic diversity and the population structure of three natural populations of *G. americana* with natural occurrence in the north of the Mato Grosso State, using SSR markers. DNA extraction was performed by the CTAB method with modifications. Six SSR primers were developed for the species. It was estimated the allelic frequency, observed and expected heterozygosity, PIC (Polymorphism Information Content) and Fixing Index. To infer about the genetic structure of the populations by means of the total decomposition in the components between and within populations we performed the Analysis of Molecular Variance and Analysis of Principal Coordinates. A dendrogram was constructed and the number of groups (k) most likely was inferred. The cluster results did not correspond to the geographical origins of the individuals. Most of the genetic variability lies within populations. The three populations showed high genetic diversity. It is proposed that fragments with occurrence of *G. americana* be preserved to maintain the genetic diversity of the species and wildlife conservation.

Keywords: 'jenipapeiro'; SSR; genetic variability; native species.

Introdução

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma espécie da família Rubiaceae, originária da região amazônica e está distribuída desde o norte da Argentina até o México (UNCTAD, 2005). É conhecida por sua utilização para diversas finalidades como construção civil, culinária (fabricação de doces e licor) e medicina caseira (GOMES, 1983; LORENZI e MATOS, 2002; SOUZA e LORENZI, 2008), além de apresentar diversos compostos químicos que a fazem importante na indústria farmacológica e na indústria alimentícia (BENTES et al., 2015; BENTES e MERCADANTE, 2014; MENDES et al., 2011).

A intensiva utilização de espécies importantes economicamente, tais como o jenipapeiro, e a fragmentação de áreas de florestas pode causar perda de diversidade genética, devido a diminuição do número de indivíduos de uma população. Isto favorece a perda de variabilidade genética, havendo em curto prazo a deriva genética e, em longo prazo, um aumento da endogamia como discutido por Kageyama et al. (1998) e por Viegas et al. (2011).

De acordo com Ramalho et al. (2016), a estrutura genética de populações refere-se à heterogeneidade na distribuição de genótipos e da variabilidade genética dentro e entre populações. A caracterização molecular está entre as formas que permitem avaliar a diversidade genética indiferente às interferências ambientais, e inferir sobre o grau de diversidade entre indivíduos e entre populações (COSTA et al., 2011).

Os marcadores moleculares têm sido muito utilizados para estimar a diversidade genética de espécies nativas amazônicas, como *Bertholletia excelsa* Bonpl (RAMALHO et al., 2016), *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K. Schum (SILVA et al., 2016), *Theobroma speciosum* (VARELLA et al., 2016) e *Spondias mombin* L. (SILVA et al., 2017). Conforme Costa et al. (2011), as pesquisas de diversidade genética são fundamentais, especialmente para espécies nativas, pois a magnitude da diversidade ainda não é totalmente conhecida.

Entre os marcadores moleculares baseados na técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) estão os marcadores moleculares SSR (Simple-Sequences Repeat) ou microssatélites. Os marcadores moleculares microssatélites estão em grande número no genoma, e estão presentes tanto nas regiões codificadas como nas regiões não codificadas, e por isso reconhecidos como um dos mais seguros para estimar a diversidade genética (KALIA et al., 2011). Contudo, para desenvolvê-lo, como feito para *G. americana*, é necessário saber se os loci estão ligados e se sua herança segue as regras de segregação mendelianas (MANOEL et al., 2014; MANOEL et al., 2015).

Assim, o presente estudo objetiva avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional de três populações de *G. americana* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores SSR.

Material e Métodos

Área de Coleta

As coletas foram realizadas nos municípios de Alta Floresta (AFL), Matupá (MTP), e Nova Bandeirante (NBD), todos localizados no norte do estado de Mato Grosso, Brasil (Figura 1). O município de Alta Floresta tem área territorial de 8.976,309 km², Matupá, tem área territorial de 5.239,672 km² e Nova Badeiras, 9606.257 km² (IBGE, 2016). O clima é quente e úmido, com temperaturas médias anuais acima de 24 °C, pluviosidade média anual acima de 2.400 mm, com uma estação seca definida de 3-5 meses (ZAPPI et al., 2011). Os tipos de vegetação na região são de transição entre Floresta Ombrófila, Floresta Estacional e Savana, (IBGE, 2017; ZAPPI et al., 2011).

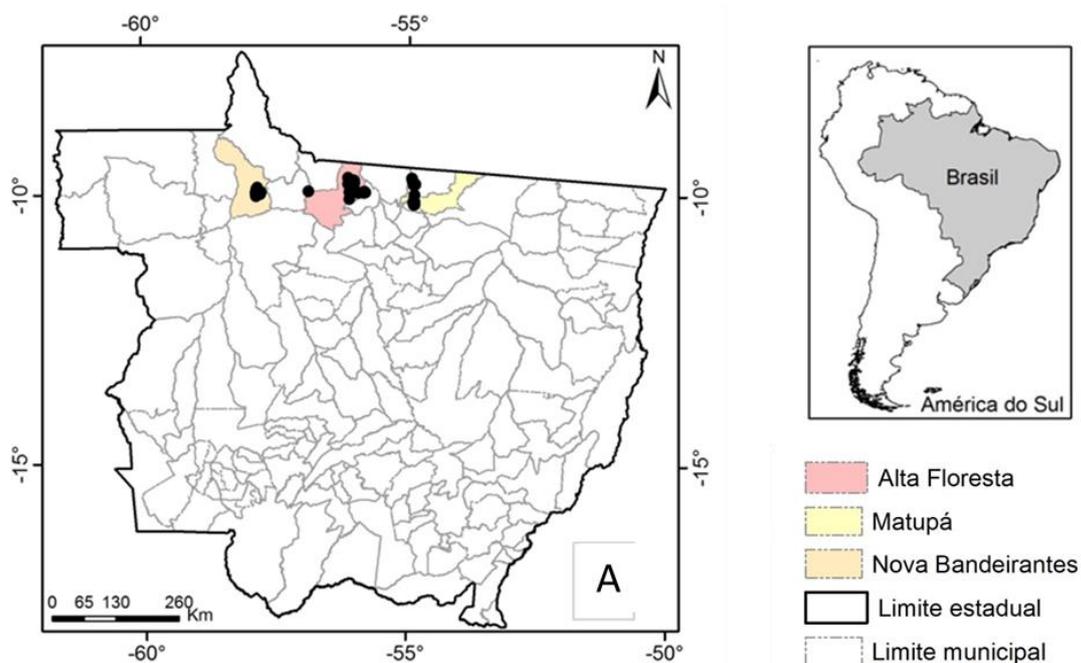


Figura 1. Localização geográfica das três populações de *G. americana* amostradas para este estudo nos municípios de Alta Floresta, Matupá e Nova Bandeirantes no estado de Mato Grosso, Brasil.

Em cada município, foi selecionada uma área onde a espécie tem ocorrência natural. Cada área se constituiu em uma população de estudo, totalizando três populações. Foram amostrados 64 indivíduos distribuídos entre

os municípios de Alta Floresta (AFL) (20), Matupá (MTP) (20) e Nova Bandeirantes (NBA) (24). Todos os indivíduos foram localizados nas bordas dos fragmentos florestais das populações em estudo. Cada indivíduo foi marcado e mapeado com auxílio de GPS.

Coleta do Material

De cada um dos 64 indivíduos de *G. americana* selecionados, foi amostrado material foliar, coletado com o auxílio de atiradeira manual e podão. Foram coletadas preferencialmente folhas jovens, sem danos ou sinais de doença. O material foi identificado ainda em campo, armazenado em sílica gel e transportado para o laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Campus Universitário de Alta Floresta - UNEMAT, posteriormente foi armazenado em freezer (-20 °C) até a extração de DNA.

Extração e Quantificação de DNA

O DNA genômico total foi extraído de aproximadamente 100 mg de material foliar seguindo o método CTAB (Brometo de Cetil Trimetil Amônio) descrito por Doyle e Doyle (1987) com modificações: aumento da concentração de polivinilpirrolidona (PVP) de 1% para 2%, CTAB de 2% para 5% e de β mercaptoetanol de 0,2% para 2% no tampão de extração, além da redução do tempo de incubação a 65°C de 60 min. para 30 min.

O tecido foliar foi lavado em água corrente e seccionado manualmente em almofariz de porcelana, sendo macerado com nitrogênio líquido com auxílio de um pistilo. O produto macerado foi transferido para microtubos de 2 mL, sendo adicionado 800 μ L de tampão de extração CTAB (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M cloreto de sódio; 20 mM EDTA; 5% CTAB; 2% polivinilpirrolidona (PVP) e 2% β -mercaptoetanol), posteriormente foi agitado em vórtex e incubado em banho-maria a 65 °C por 30 minutos.

Após resfriamento à temperatura ambiente, os microtubos foram centrifugados a 12.000 rpm em micro centrífuga por 10 minutos. Em seguida a fase aquosa (sobrenadante) foi transferida para um novo microtubode 1,5 mL e adicionado 700 μ L de clorofórmio: álcool isoamílico 24:1 (v/v). Os microtubos

foram agitados por aproximadamente 1 minuto em vórtex e centrifugados a 10.000 rpm em micro centrífuga por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e precipitado com o volume equivalente de álcool isopropílico gelado (-20 °C) por cerca de 3 horas em freezer a -20 °C. Após este período, o material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e o precipitado foi lavado duas vezes com álcool etílico a 70% (v/v) e uma vez com álcool etílico a 95% (v/v). Depois da secagem por aproximadamente 15 minutos em temperatura ambiente, o precipitado foi ressuscitado em 40 µL de TE 0,1 mM (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0) com 0,12 µL RNase na concentração de 10 mg/mL.

A solução foi incubada em banho-maria a 35 °C por 30 minutos. Posteriormente, os microtubos foram armazenados em freezer (-20 °C). A qualidade e a quantificação do DNA extraído foram realizadas por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio (0,2 mg/mL). A quantificação foi realizada por comparação com pesos moleculares de DNA padrão (λ) com amplitude de variação de 10, 20, 50 e 100 ng. O DNA quantificado foi diluído para a obtenção das soluções de trabalho a 7,5 ng/µL (MANOEL et al., 2014).

Amplificação e genotipagem de locus SSR

Foram testados 17 primers SSR (Simple Sequence-Repeat) desenvolvidos para *G. americana* L. (MANOEL et al., 2014), sendo selecionados seis primers para análise (Tabela 1).

Tabela 1. Primers SSR desenvolvidos por Manoel et al. (2014) selecionados para análise de diversidade genética de *G. americana*.

Nome	Classe	Sequência	Tamanho esperado
Gam 01	F	CATTCCACATTTGCCCTTG	175
	R	GCTTTCCTGTTCCCTAAATCC	
Gam 02	F	GCACCAGAGTCTAAAGCCAGA	186
	R	TGCACGAGTTCATTGAGATTG	
Gam 03	F	TGAAATTGCCTCTTACACACAC	245
	R	AACCACTTCCTTGAACACTGC	
Gam 06	F	CTCTGCGTGTGTGTGTGTGT	150
	R	CAAAGACTGTGCGGCATCT	
Gam 11	F	AGCCACTACCACAGTCCAT	215
	R	GGAGACCGAGTGTTACATTTCA	
Gam 36	F	TGACTTGGTGCTGTGAGACGAG	214
	R	TCAAATCCTCCCCGCCTT	

As reações de amplificação via PCR, foram realizadas em termociclador Biocycler com um volume final de 12 µL, sendo 2 µL de DNA (\pm 7,5 ng), 2,4 µL de tampão 5x, 0,6 µL de MgCl₂ (50 mM), 2 µL de primer 1 (2µM), 2 µL de primer 2 (2 µM); 2 µL de dNTP (1 mM de cada dNTP), 0,15 µL de Taq polimerase (5 U/µl) e 0,85 de H₂O. O programa de amplificação utilizado foi o proposto por Manoel et al. (2014), sendo: 5 minutos a 95 °C (desnaturação inicial); 30 ciclos de 45 segundos a 95 °C (desnaturação); 1 minuto a 53,5 – 62 °C (anelamento), a temperatura de anelamento variou de acordo com o iniciador utilizado; 1 minuto a 72 °C (extensão) e 7 minutos a 72 °C (extensão final).

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 3% em tampão de corrida TBE 1X (89,15 mM de Tris Base; 88,95 mM de Ácido Bórico e 2,23 mM EDTA), com voltagem constante de 80 V por aproximadamente cinco horas. A coloração do gel foi realizada com brometo de etídeo (0,6 ng/mL). Para comparação dos tamanhos dos fragmentos amplificados foi utilizado o DNA ladder de 100 pb (Kasvi). Em seguida o gel foi fotografado quando irradiado por luz ultravioleta pelo Transiluminador UVB LTB-21x26 (Loccus Biotecnologia®) com câmera digital (Sony®).

Análise dos dados

Os fragmentos de SSR (produtos de amplificação) foram analisados no programa GelQuantPro® (DNR, 2006), para a construção de uma matriz com base no tamanho das bandas (pb) encontradas nos géis.

O programa Power Marker V.3.25 (LIU e MUSE, 2005), foi utilizado para a determinação da frequência alélica, heterozigosidade observada e esperada, PIC (Conteúdo de informação de polimorfismo) e Índice de Fixação (F).

Os dados da matriz foram analisados pelo programa GenAIEx 6.5® (PEAKALL e SMOUSE, 2006) para a obtenção da análise das coordenadas principais (PCA) e da variância molecular (AMOVA), para inferir sobre a estrutura genética das populações por meio da decomposição total nos componentes entre e dentro de populações.

A matriz dos valores de distância genética de Nei et al. (1983) entre os indivíduos, gerada pelo programa Power Marker V.3.25, foi importada para o MEGA 6.5 (KUMAR et al., 2004) para a construção do dendrograma utilizando o método UPGMA.

O programa “Structure” (Pritchard et al., 2000), baseado em estatística bayesiana, foi utilizado para inferir o número de grupos (k). Foram realizadas 20 corridas para cada valor de K, 200.000 “burn-ins” e 500.000 simulações de Monte Carlo de Cadeias de Markov (MCMC). Para definição do K mais provável em relação aos propostos foram utilizados os critérios de Pritchard e Wen (2004) e também o critério de Evano et al. (2005), sendo os resultados enviados para o site Structure Harvester.

Resultados

Os seis primers microssatélites utilizados na genotipagem dos 64 indivíduos de *G. americana* amplificaram um total de 17 alelos, com variação de dois a quatro alelos por loco com média de 2,83 por *primer*. O maior número de alelos foi revelado pelo primer Gam 02 (4 alelos). A diversidade gênica (D_g) variou de 0,64 para o *primer* GAM36 a 0,92 para o *primer* GAM02 com média de 0,80 por *primer* (Tabela 2).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou de 0,29 a 0,60 com média de 0,45. A heterozigosidade observada apresentou um valor médio de 0,17, com o valor máximo de 0,53 para o *primer* Gam 02. A heterozigosidade esperada variou de 0,35 a 0,67, ficando acima da heterozigosidade observada para todos os primers utilizados (Tabela 2). Esta relação entre heterozigosidade observada e esperada resultou em coeficientes de endogamia (f) positivos para todos os locos analisados, tendo apresentado uma média geral de $f = 0,40$ o que indica uma maior ocorrência de homozigotos nas populações do que a esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW).

Tabela 2. Número de alelos (N_a), Diversidade Gênica (D_g), Heterozigosidade esperada (H_e), Heterozigosidade observada (H_o) e Conteúdo de Informação polimórfico (PIC) para os seis *primers* SSR, com base na amplificação de 64 indivíduos de *G. americana* das três populações amostradas no Norte de Mato Grosso, Brasil.

Primer	N_a	D_g	H_e	H_o	PIC
Gam01	3	0,87	0,61	0,27	0,54
Gam02	4	0,92	0,67	0,53	0,60
Gam03	2	0,84	0,35	0	0,29
Gam06	2	0,80	0,48	0	0,36
Gam11	3	0,70	0,57	0,13	0,49
Gam36	3	0,64	0,50	0,10	0,44
Total	17	-	-	-	-
Média	2,83	0,80	0,53	0,17	0,45

Todas as populações apresentaram uma alta diversidade gênica, entretanto as populações AFL e NBD demonstraram maior diversidade com 0,87 (Tabela 3). A heterozigosidade esperada foi de 0,48 para a população

AFL; 0,51 para MTP e 0,57 para NDB, estando sempre acima da heterozigosidade observada em todas as populações. O índice de fixação foi alto para todas as populações (Tabela 3). O conteúdo de informação polimórfica variou de 0,40 a 0,50.

Tabela 3. Comparação da diversidade genética entre as três populações de *G. americana* estudadas via índice de diversidade gênica de Nei (H). Diversidade Gênica (Dg), Heterozigosidade esperada (He), Heterozigosidade observada (Ho), Índice de fixação (f) e Conteúdo de informação polimórfica (PIC).

Populações	Dg	He	Ho	f	PIC
AFL	0,87	0,48	0,14	0,72	0,40
MTP	0,83	0,51	0,21	0,60	0,42
NBD	0,87	0,57	0,13	0,78	0,50

Esta diversidade intrapopulacional pode ser observada nos dendogramas das populações apresentados nas figuras 2, 3 e 4.

No dendrograma representando a população AFL pode-se observar a formação de três grupos (Figura 2), sendo o grupo I formado por quatro indivíduos e os grupos II e III foram constituídos por oito indivíduos, subdivididos em dois subgrupos A e B. Os genótipos mais similares nesta população foram os AFL09, AFL10 e o AFL11; os AFL5 e AFL6 e os AFL2 e AFL18.

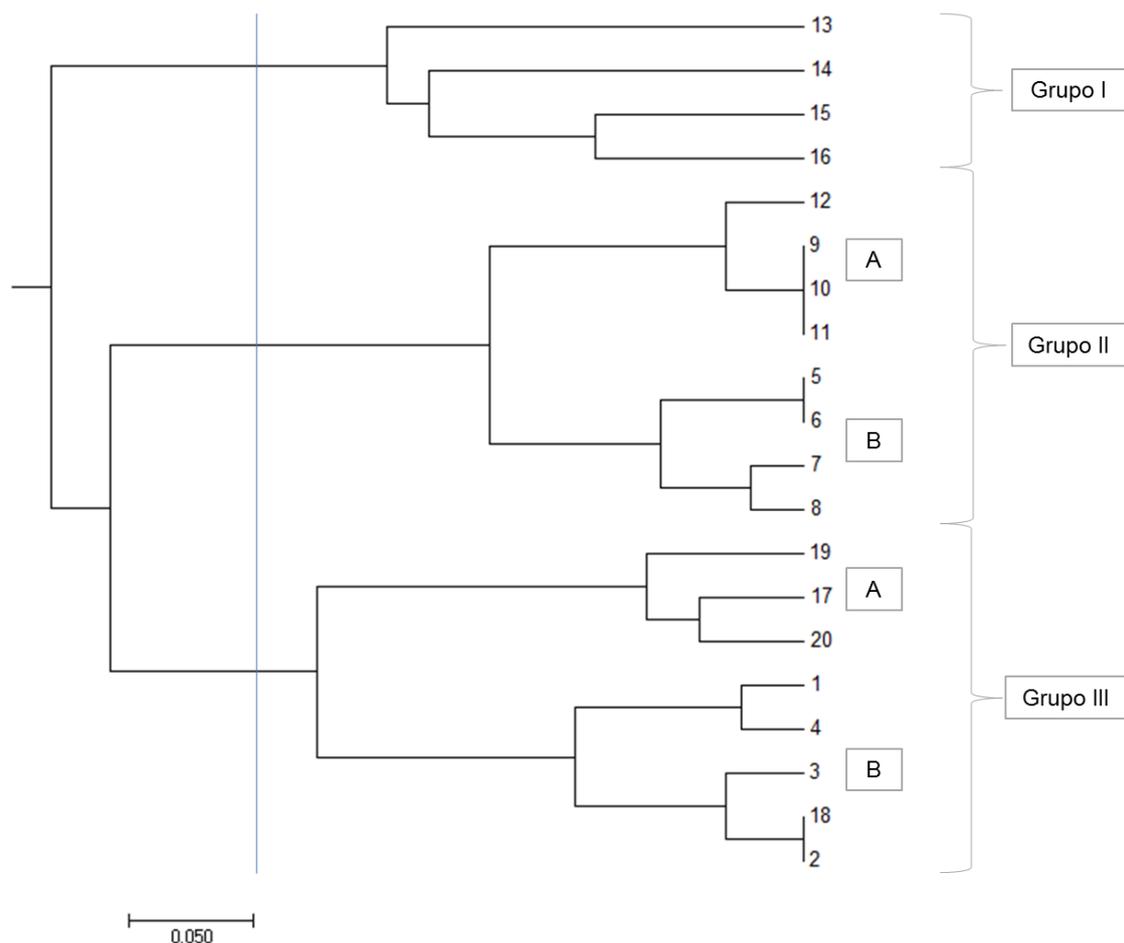


Figura 2. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos da população AFL de *G. americana*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base distância genética de Nei, por meio de marcadores SSR.

Na população MTP foi observado a formação de dois grupos, sendo o grupo I constituído por quatro indivíduos, tendo neste grupo os indivíduos MTP18 e MTP19 como os mais similares, neste grupo também pode ser observada a formação de subgrupos menores (Figura 3). No grupo II foram alocados 16, sendo observado a formação de três subgrupos A, B C. Os indivíduos mais similares dentro do grupo I foram MTP18 e MTP19. Nos subgrupos representados no grupo II, os indivíduos mais similares foram MTP1, MTP2, MTP3 e MTP4 (subgrupo A), MTP6 e MTP7 (subgrupo B), e, MTP8 e MTP13 (subgrupo C).

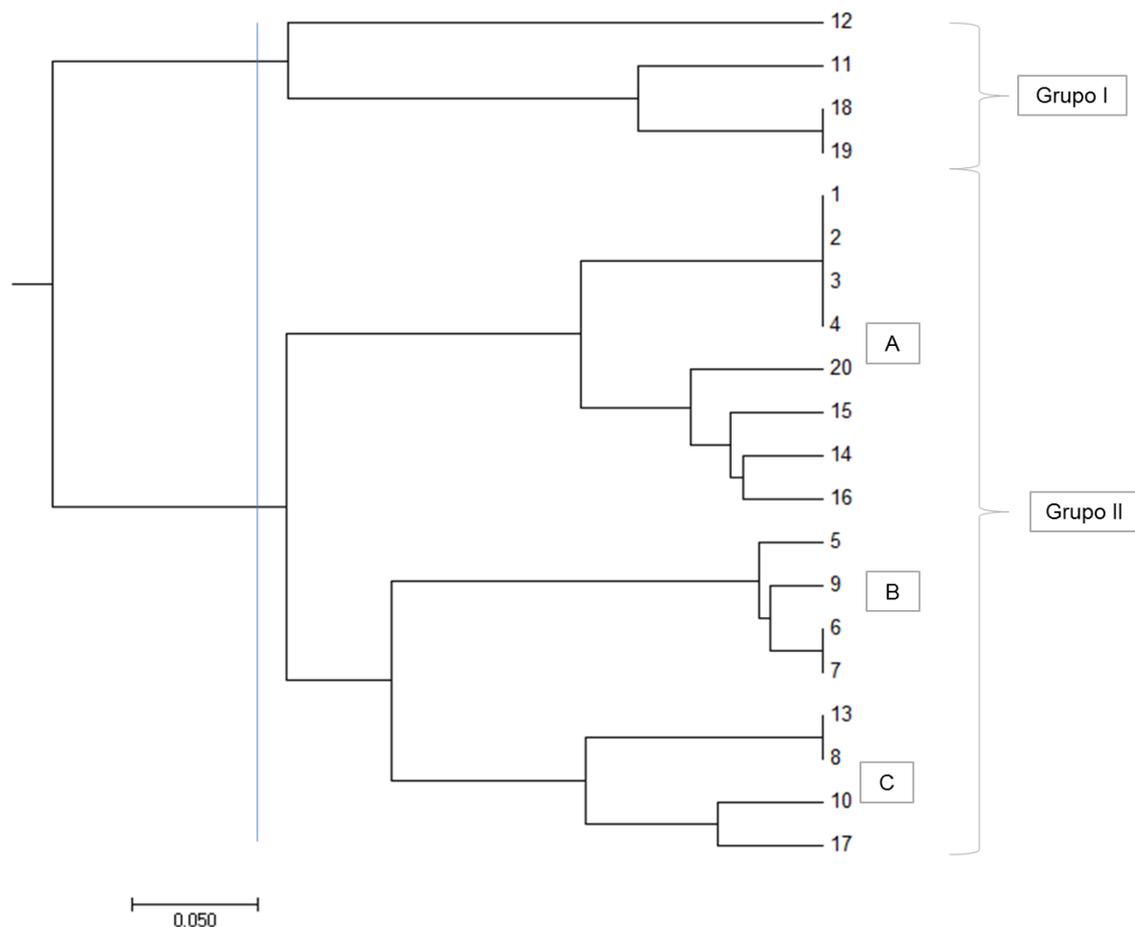


Figura 3. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos da população MTP de *G. americana*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base distância genética de Nei, por meio de marcadores SSR.

Na população NBD, assim como na população AFL houve a formação de três grupos (Figura 4), sendo alocados no grupo I 11 indivíduos, no grupo II quatro indivíduos e no grupo III nove indivíduos. Todos os três grupos subdividiram-se em dois subgrupos A e B. Os indivíduos mais similares foram NBD18 e NBD19 (Grupo I, subgrupo A) e os indivíduos NBD8 e NBD13 (Grupo III, subgrupo B).

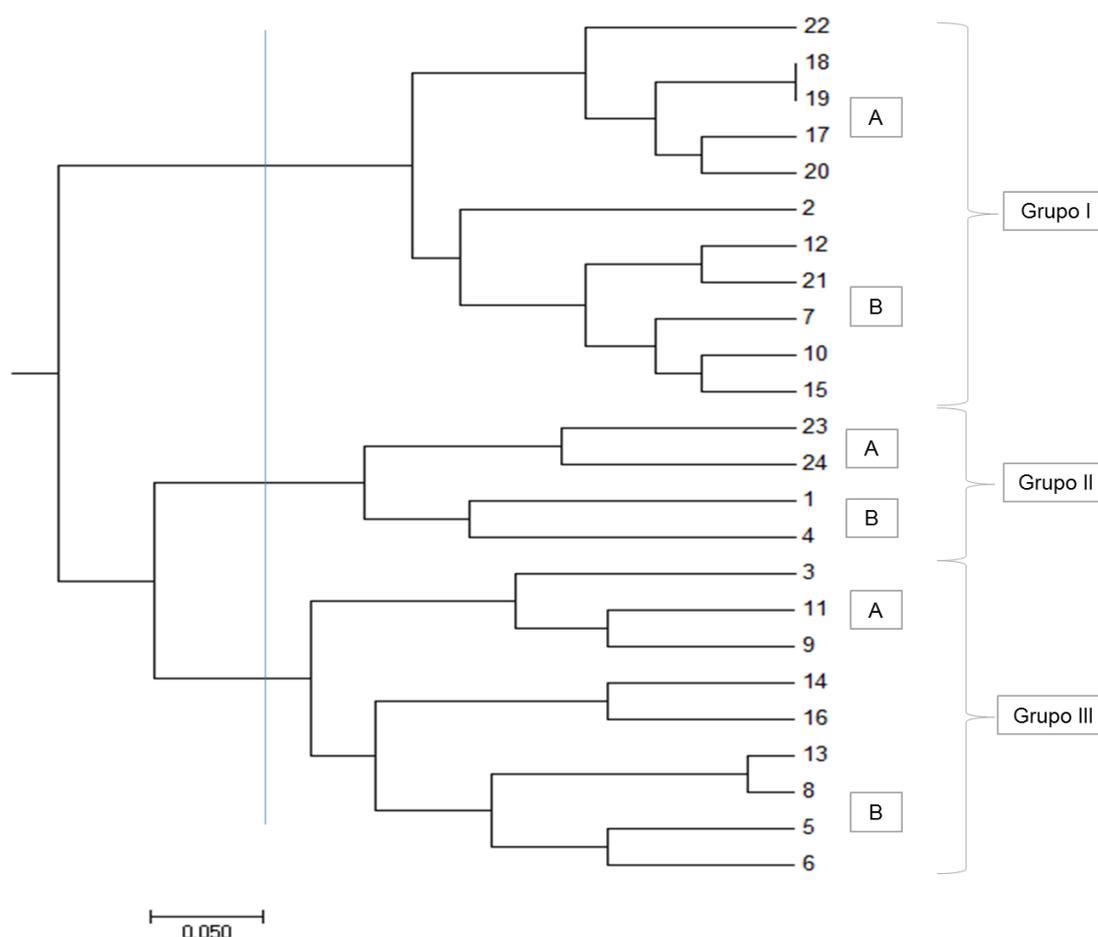


Figura 4. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos da população NBD de *G. americana*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base distância genética de Nei, por meio de marcadores SSR.

A análise de variância molecular (AMOVA) indicou que 13% da variância total como diferença entre populações e 87% dentro de populações, revelando que a maior diferenciação genética está no componente intrapopulacional do que no componente interpopulacional (Tabela 4).

Tabela 4: Análise molecular da variância (AMOVA) nas três populações naturais de *G. americana*, localizadas no norte do estado de Mato Grosso estudadas a partir de seis marcadores SSR.

Fonte de Variação	GL*	SQ*	CV*	VT (%)*	F _{ST}
Entre Populações	2	26,81	0,273	13	0,13
Dentro de Populações	63	223,10	1,785	87	
Total	64	249,91	2,058		

* Grau de Liberdade (GL), Soma dos Quadrados (SQ), Componente de Variância (CV), Variância Total (VT) e P são as probabilidades de ter um componente de variância maior que os valores observados ao acaso. As probabilidades foram calculadas por 1023 permutações ao acaso. P<0,001

A análise de AMOVA revelou que a maior parte da variação genética foi devido a diferenças entre indivíduos, confirmando a diversidade intrapopulacional observada nos dendogramas das populações apresentados na figura 2,3 e 4.

A análise das coordenadas principais (Figura 5) indicou que os indivíduos não estão separados de acordo com suas procedências. A maior parte da variação entre indivíduos é explicada pela primeira coordenada principal (19,7%), que em conjunto com a segunda coordenada principal, representam cerca de 33,2% da variação total. Observou-se no agrupamento gerado pelo gráfico da PCoA, que os indivíduos da população NBD ficaram mais isolados das outras duas populações.

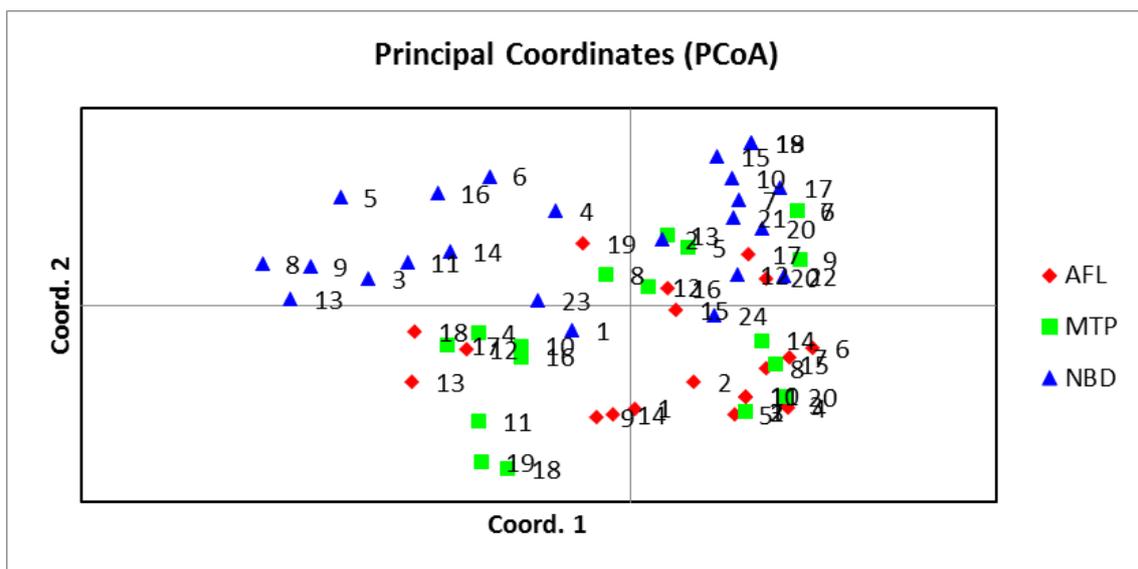


Figura 5: Dispersão gráfica a partir da análise das coordenadas principais dos 64 indivíduos de *G. americana* provenientes das três populações AFL, MTP e NBD amostradas no norte de Mato Grosso.

A estrutura genética das populações de *G. americana* foi verificada por meio de análise com o programa Structure 2.3.4. O número mais provável de populações diferentes que contribuiriam na composição genética da população em estudo foi verificado pela estimativa do ΔK descrito por Evanno et al. (2005). O ΔK foi estimado para K variando de um até seis, sendo que o maior valor ocorre para o número de populações geneticamente distintas que melhor

explica o conjunto de dados. Para este estudo, o valor de K indicou a presença de cinco grupos genéticos, ou populações, distintas dentre os 64 indivíduos analisados (Figura 6).

O gráfico da composição genética dos 64 indivíduos de *G. americana* foi obtido utilizando o Structure (Pritchard et al., 2000), com K = 5. Os cinco grupos genéticos encontrados estão representados nas cores vermelho, amarelo, rosa, verde e azul, indicando respectivamente as populações (A, B, C, D e E) formadas pela análise do structure (Figura 6). A Figura 6 indica que as cinco populações (A, B, C, D e E) estão presentes na composição genômica das três populações originalmente amostradas (AFL, MTP e NBD) nos diferentes municípios. Ainda que as populações originais (AFL, MTP e NBD) tenham proporções diferentes de contribuição das populações A, B, C, D e E não há uma relação clara entre as populações AFL, MTP e NBD com essas populações. Isso indica que a diversidade genética não encontra-se estruturada geograficamente nas populações amostradas neste estudo.

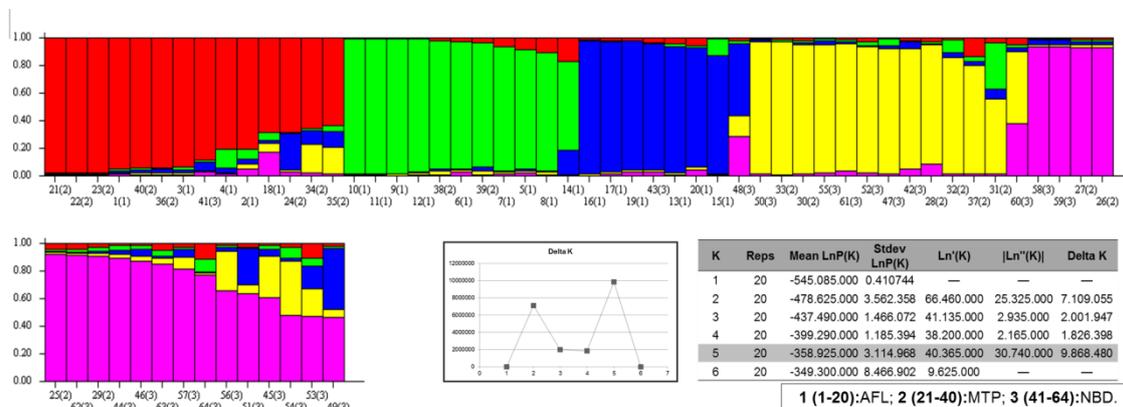


Figura 6. Representação da distribuição dos 64 indivíduos de *G. americana* em grupos segundo dados moleculares de 6 *primers* SSR, utilizando o programa “Structure”. Os indivíduos estão representados por barras verticais com colorações de acordo com o grupo ao qual pertencem (cinco grupos, K = 5).

Discussão

Os primers utilizados neste estudo revelaram a presença de 17 alelos nos 64 indivíduos (média 2,83). O número de alelos obtidos foi inferior ao encontrado por Manoel et al. (2014), comparando os mesmos primers deste estudo, ao analisarem duas populações de jenipapeiro em Mato Grosso do Sul (19 indivíduos) e São Paulo (21 indivíduos), onde obtiveram 33 alelos (média 5,50) na primeira população e 27 alelos (média 4,50) na segunda população.

O conteúdo de informação polimórfica de *G. americana* com marcador microsatélite apresentou média de 0,45, esse valor é superior ao encontrado por Silva et al. (2014) para a mesma espécie (0,21) em análise com marcador molecular ISSR (Inter-Simple Sequences Repeat). Conforme Botstein et al. (1980), marcadores com valores do conteúdo de informação polimórfica (PIC) acima de 0,50 são considerados muito informativos, com valores entre 0,25 e 0,50 são razoavelmente informativos e aqueles com valores inferiores a 0,25 são pouco informativos. O PIC médio (0,45) observado para jenipapeiro indica que os marcadores foram razoavelmente informativos.

A heterozigosidade observada para as três populações do jenipapeiro foi inferior a heterozigosidade esperada. Resultados semelhantes têm sido encontrado em diversos estudos com espécies tropicais (DARDENGO et al., 2016; VARELLA et al., 2016; SILVA et al., 2017). Conforme Alves et al. (2007) o número de alelos está correlacionado ao valor de heterozigosidade esperada. Quanto mais alelos presentes nas populações, maior deve ser o número de heterozigotos entre os indivíduos, seguindo as proporções previstas na Lei de Hard-Weinberg (GRIFFITHS et al., 2013). Os valores obtidos neste estudo revelam que as populações de *G. americana* não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, como indicou a média do índice de fixação.

A média do índice de fixação para as populações estudadas foi de 0,40, sendo positiva e alta para os indivíduos do jenipapeiro indicando presença de endogamia nas populações. Contudo, esse alto índice de fixação não é padrão para a espécie *G. americana*, como foi exposto por Sebben et al. (1998) (média de -0,07) e por Manoel et al. (2014) (médias de -0,04 e -0,09). Conforme Kageyama et al. (2003), o índice de fixação (f) é um dos parâmetros mais

importantes da genética de populações por medir o balanço entre homozigotos e heterozigotos: espécies com mais homozigose do que heterozigose podem ser resultantes de efeito fundador. Ainda de acordo com os mesmos autores, o valor de f positivo e alto, significa que as populações se estruturam conforme deriva genética.

A maior parte da diversidade genética encontra-se dentro das populações de *G. americana*, conforme revelado pela AMOVA. Isso é decorrente do mecanismo de reprodução da espécie. *G. americana* é uma espécie funcionalmente dioica, com sistema de reprodução alogâmico, sendo as flores polinizadas por pequenas e grandes abelhas (*Bombus morio* e *Epicaris rustica flava*) (GURGEL-GARRIDO et al., 1997).

O agrupamento gerado pelo método PCoA, bem como a distribuição em 5 grupos gerado no programa “Structure”, não correspondeu a distribuição geográfica dos indivíduos, revelando que a diversidade genética não está estruturada geograficamente. Em estudos com espécies da Amazônia (*Mauritia flexuosa*, *Theobroma speciosum* e *Spondias mombin*), foram observados que a diversidade genética se apresentou estruturada geograficamente (ROSSI et al., 2014; VARELLA et al., 2016 e SILVA et al., 2017), diferente do observado para este estudo.

Os indivíduos de *G. americana* se encontram em áreas fragmentadas, o que pode ter influenciado nos padrões da diversidade genética e nos índices de fixação das populações estudadas. Paisagens perturbadas além de influenciar na demografia de espécies vegetais também têm influencia na densidade de polinizadores (HADLEY e BETTS, 2012) e de dispersores de sementes.

Em populações fragmentadas pode ocorrer o aumento da endogamia, decorrente da maior probabilidade de autofecundação e cruzamento entre indivíduos aparentados, por uma redução no número de indivíduos, sendo gerada uma taxa de endogamia maior com auto-fecundação (CARVALHO et al., 2010). Gaino et al. (2010) alegam que populações isoladas tendem a

reduzir a diversidade e o tamanho das populações, reforçando a necessidade de conservação de espécies vegetais.

Conclusão

Os genótipos das populações apresentam diversidade genética, sendo maior dentro das populações do que entre as populações. As três populações apresentam alta diversidade genética.

As populações estudadas apresentam altas taxas de endogamia, como consequência da baixa heterozigosidade encontrada, podendo estar relacionada com o ambiente fragmentado em que as populações se encontram atualmente, diminuindo o número de indivíduos de *G. americana* e de polinizadores.

Se tratando de uma espécie nativa importante culturalmente e economicamente, além de ser atrativa para animais selvagens, propõe-se que os fragmentos com ocorrência de indivíduos de *G. americana* sejam mantidos para manutenção da diversidade genética, uma vez que a maior diversidade está no componente intrapopulacional.

Referências

- ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; ARTERO, A. S.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Tree Genetics & Genomes**, v. 3 n. 4, p. 289-298, 2007.
- ARAUJO, N. A.; PINHEIRO, C. U. B. Relações ecológicas entre a fauna ictiológica e a vegetação ciliar da região lacustre do baixo pindaré na baixada maranhense e suas implicações na sustentabilidade da pesca regional. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 22, p. 55-68, 2009.
- BENTES, A. de S.; SOUZA, H. A. L. de; AMAYA-FARFAN, J.; LOPES, A. S.; FARIA, L. J. G. Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3919–3924, 2015.
- BENTES, A. S.; MERCADANTE, A. Z. Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa americana* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 62, p. 10800–10808, 2014.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **The American Journal of Human Genetics**, v.32, p. 314-331, 1980.
- CARVALHO, A. C. M. D.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, S. M. B. D.; MORAES, M. L. T. D.; STRANGHETTI, V.; ALZATE-MARIN, A. L.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética, endogamia e fluxo gênico em pequena população fragmentada de *Copaifera langsdorffii*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 4, p. 599-606, 2010.
- COSTA, T. S.; da SILVA, A. V. C.; SILVA LÉDO, A.; SANTOS, A. R. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 5, 499-508, 2011.
- CRESTANA, C. S. M.; BATISTA, E. A.; MARIANO, G. Fenologia da frutificação de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar do Rio Moji Guaçu, SP. **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, n. 45, p.31-34, 1992.
- CUNHA, J. M. P da. Dinâmica migratória e o processo de ocupação do Centro Oeste brasileiro: o caso de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Estudos de População**, v. 23, n. 1, p. 87-107, 2006.
- DARDENGO, J. F. E.; ROSSI, A. A. B.; SILVA, B. M. da; SILVA, I. V. da; SILVA, C. J. da; SEBBENN, A. M. Diversity and spatial genetic structure of a natural population of *Theobroma speciosum* (Malvaceae) in the Brazilian Amazon. **Revista Biologia Tropical**, v. 64, n. 3, p. 1091-1099, 2016.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p. 2611-2620, 2005.

FIGUEIREDO, M. G. DE; BARROS, A. L. M. DE; GUILHOTO, J. J. M. Relação econômica dos setores agrícolas do Estado do Mato Grosso com os demais setores pertencentes tanto ao Estado quanto ao restante do Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 43, n. 3, p. 557-575, 2005.

GAINO, A. P.; SILVA, A. M.; MORAES, M. A.; ALVES, P. F.; MORAES, M. L.; FREITAS, M. L.; SEBBENN, A. M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**, v.11, n. 5, p. 1631-1643, 2010.

GOMES, R.P. **Fruticultura brasileira**. 9^a ed. São Paulo: Nobel, p.278-281, 1983

GRIFFITHS, A. J. F.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B.; WESSLER, S. R. **Introdução à Genética**. Guanabara Koogan, 10^a ed., 2013. 736p.

GURGEL GARRIDO, L. M. DO A.; SIQUEIRA, A. C. M. DE F.; CRUZ, S. F.; ROMANELU, R. C.; ETIORI, L. DE C.; CRESTANA, C. DE S. M.; SILVA, A. A. DA; MORAIS, E.; ZANATIO, A. C. S.; SATO, A. S. Programa de melhoramento genético florestal do Instituto Florestal (acervo). **Instituto Florestal – Série Registros**, v. 18, p.1-53, 1997.

HADLEY, A. S.; BETTS, M. G. The effects of landscape fragmentation on pollination dynamics: absence of evidence not evidence of absence. **Biological Reviews**, v. 87, n. 3, p. 526-544, 2012.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapas** – vegetação disponível em: <<http://mapas.ibge.gov.br/tematicos/vegetacao>> acessado em 18 jan. 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Atlas do Desenvolvimento Humano no Brasil 2016. Disponível em:<http://portal.cnm.org.br/sites/670/6745/AtlasIDHM2013_Perfil_Carlinda_mt.pdf> Acessado em: 18 Dez. 2016.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBEN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sussecionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, n. 64, p.93-107, 2003.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B.; SOUZA, L. M. I. de. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF**, v. 12, n. 32, p. 65-70, 1998.

KALIA, R. K.; RAÍ, M. K.; KALIA, S.; DHAWAN, A. K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, p. 309334, 2011.

KUMAR, S.; TAMURA K.; NEI, M. Mega: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, v. 5, p.150-163, 2004.

LIU, K.; MUSE, S. V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics**, v.21, p.2128-2129, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J. DE A. **Plantas Medicinais no Brasil/** Nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. 512 p.

MANOEL, R. O.; FREITAS, M.L.M.; BARRETO, M. A.; MORAES, M.L.T.; SOUZA, A.P.; SEBBENN, A. M. Development and characterization of 32 microsatellite loci in *Genipa americana* (Rubiaceae). **Applications in Plant Sciences**, v. 2, n.3, p. 1-3, 2014.

MANOEL, R. O.; FREITAS, M. L. M.; TAMBARUSSI, E. V.; CAMBUIM, J.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Mendelian inheritance, genetic linkage, and genotypic disequilibrium at microsatellite loci in *Genipa americana* L.(Rubiaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, 8161-8169, 2015.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C. de; CASTRO, H. F. de; GIORDANO, R. de L. C. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 831-840, 2011.

NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. **Journal Molecular Evolution**, v. 19, p. 153-170, 1983.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAEx 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology**, v.6, p. 288-295, 2006.

PRADO-NETO, M.; DANTAS, A. C. V. L.; VIEIRA, E. L.; ALMEIDA, V. O. Germinação de sementes de jenipapeiro submetidas à pré-embebição em regulador e estimulante vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 693-698, 2007.

PRITCHARD, J. K.; WEN, W. Documentation for Structure software: Version 2.1. 2004. Disponível em <<http://pritch.bsd.uchicago.edu>>. Acessado em 07 de janeiro 2017.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, p. 945-959, 2000.

RAMALHO, A. B.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. F. E.; ZORTÉA, K. É. M.; TIAGO, A. V.; MARTINS, K. C. Diversidade genética entre genótipos de *Bertholletia excelsa* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Floresta**, v. 46, n. 2, 207-214, 2016.

ROSSI, F. S.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; BRAUWERS, L. R.; SILVA, M. L. D.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, v. 42, n. 104, p. 631-639, 2014

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética especial em *Genipa americana* L.

através de marcadores isoenzimáticos. **Scientia Forestalis**, v. 53, n. 1, p. 15-30, 1998.

SILVA, A. V. C.; FREIRE, K. C. S.; LÉDO, A. S.; RABBANI, A. R. C. Diversity and genetic structure of jenipapo (*Genipa americana* L.) Brazilian. **Scientia Agricola**, v.71, n.5, p.345-355, 2014.

SILVA, B. M.; ROSSI, A. A. B.; TIAGO, A. V.; SCHMITT, K. F. M.; DARDENGO, J. F. E.; SOUZA, S. A. M. Genetic diversity of Cajazeira (*Spondias mombin* L.) in three geographic regions. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.1, p. 1-11, 2017.

SILVA, B. M. D.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; ARAUJO, V. A. A. C. D.; ROSSI, F. S.; OLIVEIRA, L. O. D.; CLARINDO, W. R. Genetic diversity estimated using inter-simple sequence repeat markers in commercial crops of cupuassu tree. **Ciência Rural**, v. 46, n.1, 108-113, 2016.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática - Guia ilustrado para a identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. Nova Odessa, Plantarum. 2008, 704p.

UNCTAD, Marketbriefinthe European Union for selected natural ingredients derived from native species: *Genipa americana*. **Conference on Trade and Development / BioTrade Facilitation Programme**, United Nations. 2005. 38p.

VARELLA, T. L.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. F. E.; SILVEIRA, G. F.; SOUZA, M. D. A.; CARVALHO, M. L. S. Effect of fragmentation on the natural genetic diversity of *Theobroma speciosum* Willd. ex Spreng. Populations. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 4, p. 1-10, 2016.

VIEGAS, M. P.; SILVA, C. L. S. P.; MOREIRA, J. P.; CARDIN, L. T.; AZEVEDO, V. C. R.; CIAMPI, A. Y.; AZEVEDO, V. C. R.; CIAMPI, A. Y.; FREITAS, M.L.M.; , MORAES, M. L. T. DE; SEBBENN, A. M. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., sob conservação ex situ. **Revista Árvore**, 769-779, 2011.

ZAPPI, D. C.; SASAKI, D.; MILLIKEN, W.; IVA, J.; HENICKA, G.S.; BIGGS, N.; FRISBY, S. Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, norte de Mato Grosso, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 1, p. 29 – 38, 2011.

4. Conclusões Gerais

Os usos da espécie *G. americana* praticadas por conhecedores populares não põe em risco a diversidade da espécie e promovem sua conservação. A espécie é utilizada na medicina popular e culinária, principalmente.

A espécie possui alta regularidade meiótica e alta viabilidade polínica. Os polens de *G. americana* têm exina reticulada e são médios, oblato-esferoidal, tricolporados.

Os genótipos das populações apresentam alta diversidade genética, sendo maior dentro das populações do que entre as populações. As populações de *G. americana* AFL, MTP e NBD apresentam altas taxas de endogamia.

Por ser uma espécie nativa importante, propõe-se que os fragmentos com ocorrência de indivíduos de *G. americana* sejam mantidos e que áreas degradadas sejam recuperadas para manutenção da diversidade genética e também para possibilitar maiores chances de sucesso na reprodução da espécie, reduzindo a exposição da espécie a deriva genética, redução do fluxo gênico e endogamia.

ANEXO A



Pesquisa: Uso do jenipapeiro entre moradores de comunidades rurais de Carlinda, MT

Identificação – Dados Pessoais

1) Nome:

2) Idade: _____ Sexo: () Masculino () Feminino

3) Estado civil: _____

4) Naturalidade: _____

5) Escolaridade:

a) () Analfabeto

e) () Apenas Alfabetizado

b) () Ens. Fundamental Incompleto

f) () Ens. Fundamental Completo

c) () Ens. Médio Incompleto

g) () Ens. Médio Completo

d) () Superior Incompleto

h) () Superior Completo

6) Profissão: _____

7) Mora na: Zona Urbana () Zona Rural ()

8) Comunidade e/ou bairro que

reside: _____

9) Tempo de moradia na comunidade e/ou bairro no

Município: _____

10) Qual sua cidade de origem? _____

Dados da Planta – Jenipapeiro

1 – Você conhece a planta Jenipapeiro e/ou seus subprodutos?

() sim

() Não

2 – Quais os usos que você conhece do jenipapeiro?

3. Você possui jenipapeiro em sua propriedade?

() sim () não



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTA FLORESTA



4. Onde adquire o jenipapeiro?

5. Você realiza alguma atividade de compra e venda dessa planta?

6. Se sim, como é a procura por essa planta?

7. Quais produtos do jenipapeiro são vendidos em sua banca? (Não aplicável)

8. Tem interesse em aumentar a produção ou comercialização dessa planta?

9. Alguma recomendação especial para coleta e preparo (época do ano, cuidados, etc.):

10 – Como reconhece o jenipapeiro?

11. Você utiliza o jenipapeiro como planta medicinal?

() Sim () Não

12. Como obteve a informação sobre o jenipapeiro?

() reportagens na TV () artigos científicos () livros/revistas () geração para geração

() conversas com vizinhos () outros _____

13. Você acredita que o jenipapeiro tem propriedades medicinais?

() sim

() não

14. O jenipapeiro é indicado para quais enfermidades?

15. Qual parte da planta (jenipapeiro) é utilizada?

() raiz () caule () folha () fruto () flores () sementes () casca

() outros _____



ESTADO DE MATO GROSSO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTA FLORESTA



16. Como é preparado?

() infusão () maceração () fervido () in natura ()

outros _____

17. Além do uso medicinal, quais as outras formas de uso que faz do jenipapeiro?

