

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE  
PLANTAS  
FELIPE SAKAMOTO VIEIRA**

**Diversidade Genética e Estrutura Populacional de Populações  
Naturais de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* B.)**

**ALTA FLORESTA  
MATO GROSSO – BRASIL  
FEVEREIRO - 2014**

FELIPE SAKAMOTO VIEIRA

**Diversidade Genética e Estrutura Populacional de Populações  
Naturais de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* B.)**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi

ALTA FLORESTA  
MATO GROSSO – BRASIL  
FEVEREIRO - 2014

Vieira, Felipe Sakamoto.

V658d Diversidade genética e estrutura populacional de populações naturais de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* B.) / Felipe Sakamoto Vieira. – Alta Floresta, 2014  
82 f. ; 30 cm. il.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade do Estado de Mato Grosso.

Bibliografia: f. 77-81

Orientador: Ana Aparecida Bandini Rossi

1. Castanheira. 2. SSR. 3. Distribuição Espacial. I. Autor. II. Título.

CDU 633.872

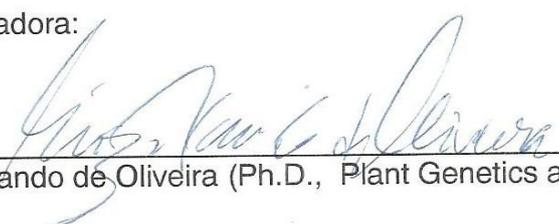
DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE  
POPULAÇÕES NATURAIS DE CASTANHA DO BRASIL (*Bertholletia  
excelsa* BONPL.)

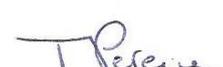
**FELIPE SAKAMOTO VIEIRA**

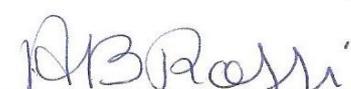
Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das  
exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento de Plantas, para  
obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 05 de fevereiro de 2014.

Comissão Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Luiz Orlando de Oliveira (Ph.D., Plant Genetics and Breeding) – UFV

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Ana Aparecida Bandini Rossi (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) –  
UNEMAT  
(Orientadora)

## Dedicatória

(...) Eu segurava você e dizia para sua mãe: esse menino vai ser o melhor menino do mundo... Esse menino vai ser o melhor menino do que qualquer um que conhecemos. E você cresceu bom, maravilhoso, foi muito legal ver você crescer, foi um privilégio. Aí chegou a hora de você ser adulto e conquistar o mundo e você conquistou, mas, em algum ponto deste percurso você mudou. Você deixou de ser você. **Agora você deixa as pessoas botarem o dedo na sua cara e dizerem que você não é bom.** Vou dizer uma coisa para você que você já sabe: O mundo não é um grande arco-íris, é um lugar sujo, é um lugar cruel que não quer saber o quanto você é forte... Vai botar você de joelhos e você vai ficar de joelhos para sempre se você deixar. Você, eu ou ninguém vai bater tão duro como a vida. **Mas, não se trata de bater duro, se trata de quanto você aguenta apanhar e seguir em frente, o quanto você é capaz de aguentar e continuar tentando...** É assim que se consegue vencer. Agora se você sabe o seu valor então vá atrás do que você merece. Mas tem que ter disposição para apanhar e nada de apontar dedos e dizer que você não consegue por causa dele, dela o de quem seja... Só covardes fazem isso e você não é covarde, você é melhor do que isso! Eu sempre vou amar você acima de tudo, aconteça o que acontecer. (...)

Rocky Balboa (2006)

## **AGRADECIMENTOS**

A todos aqueles que tornaram este trabalho possível, em especial:

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

À Universidade do Estado de Mato Grosso, pela oportunidade de cursar um Programa de Mestrado;

À minha orientadora pelo incentivo, paciência e aprendizado;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela contribuição em minha formação profissional;

À minha família, pelo incentivo emocional e financeiro durante todo o curso;

À minha namorada Bruna, por sempre acreditar em minha capacidade;

Aos meus colegas de mestrado, pelo apoio e companheirismo;

Aos colegas de laboratório, pelos incentivos, ajuda e parceria.

## Biografia

Felipe Sakamoto Vieira nasceu em Maringá – PR, em 17 de abril de 1988. Um ano depois mudou-se com sua família para Alta Floresta – MT onde iniciou seus estudos escolares na escola CNEC. Em 2005, encerrou o ensino médio na mesma escola e em 2006, iniciou o curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela UNEMAT *campus* de Alta Floresta, o qual concluiu em 2010 sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Aparecida Bandini Rossi. Coursou também pós-graduação *Lato sensu* em Gestão e Planejamento Ambiental pelo Instituto Superior de Pesquisa e Pós-graduação o qual concluiu em 2011. Em 2012, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas – UNEMAT – Campus de Alta Floresta, vindo a concluir em 2014.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Amazônia .....	3
2.2 A Castanheira .....	4
2.2.1 Taxonomia e distribuição .....	4
2.2.2 Características botânicas .....	5
2.2.3 Dispersão e germinação das sementes .....	7
2.3 Estrutura populacional .....	8
2.4 Diversidade Genética .....	9
2.5 Marcadores SSR .....	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	11
4. CAPÍTULOS .....	19
CAPITULO I: Diversidade Genética de Populações de Castanha do Brasil ( <i>Bertholletia excelsa</i> B.) com Ocorrência Natural na Amazônia Meridional .....	19
RESUMO .....	20
ABSTRACT .....	21
INTRODUÇÃO .....	22
MATERIAL E MÉTODOS .....	24
Área de Estudo .....	24
Amostragem das populações e coleta de material .....	25
Procedimentos laboratoriais .....	26
Extração e quantificação de DNA .....	26
Amplificação e genotipagem de locos microssatélites .....	28
Análise dos dados .....	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
CONCLUSÕES .....	41
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42
CAPÍTULO II: Estrutura Populacional e Distribuição Espacial de <i>Bertholletia excelsa</i> B. no Parque Nacional do Juruena, Amazônia Meridional .....	49
RESUMO .....	50

ABSTRACT .....	51
INTRODUÇÃO .....	52
MATERIAL E MÉTODOS.....	53
Caracterização da área de Estudo.....	53
Procedimentos em campo .....	53
Análise dos dados.....	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÕES .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	65

## RESUMO

Vieira, Felipe Sakamoto; M.Sc.; Universidade do Estado de Mato Grosso; Fevereiro de 2014; Diversidade Genética e Estrutura Populacional de Populações Naturais de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* B.). Orientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi. Conselheiras: Leonarda Grillo Neves e Rosana Rodrigues.

A castanheira (*Bertholletia excelsa* B.) é considerada um recurso símbolo do desenvolvimento sustentável, após a decadência do ciclo econômico da borracha, constituiu-se no principal produto extrativo. A fragmentação de habitat, como a que ocorre na Amazônia, resulta em perda de diversidade biológica e consequente da variabilidade genética intraespecífica, o que pode estar ocorrendo em populações naturais de castanheiras uma vez que é uma espécie amazônica e encontra-se em regiões com grande perturbações antrópicas. Assim, o presente estudo objetivou analisar a estrutura populacional e a diversidade genética em populações de *B. excelsa* com ocorrência natural na Amazônia Meridional. Para o estudo da diversidade genética foram amostrados 86 indivíduos distribuídos em duas populações. As extrações de DNA total seguiram o método CTAB com modificações, as amplificações e análise da diversidade foram realizadas com base em 11 marcadores de microssatélite descritos para a espécie. Para a verificação da estrutura populacional e distribuição espacial, foram analisadas duas áreas, com ocorrência natural da espécie, no Parque Nacional do Juruena. Nas duas áreas foram amostrados todos os indivíduos com DAP superior a 10 cm. Os indivíduos foram organizados em classes de DAP e a determinação do tipo de distribuição espacial se deu pelo índice de Morisita. Os marcadores de SSR revelaram 70 alelos, com média de 6,36 alelos por *primer*. A Heterozigosidade observada média foi de 0,4296 e o PIC de 0,7235. A AMOVA revelou que 19% da variação está entre as populações e 81% dentro delas. Segundo a análise das coordenadas principais, os três primeiros componentes demonstram 32,02% da variação. Os agrupamentos (UPGMA e Structure) demonstraram que os indivíduos se organizaram de acordo com sua população de origem e ausência de indivíduos geneticamente idênticos. A variabilidade genética está em maior proporção a nível intrapopulacional, e por existir diversidade genética, ambas as populações podem ser utilizadas como fonte de recurso genético na conservação da espécie. Segundo a análise populacional, a área I, com 1200 ha possui densidade de 0,119 indivíduos ha<sup>-1</sup> e a área II, com 500

ha de 0,032 indivíduos ha<sup>-1</sup>. Pela distribuição em classes de DAP, 97,20% e 77,78% das árvores amostradas possuem DAP entre 81 e 200 cm para a área I e área II respectivamente. A altura média dos indivíduos da área I foi de 39 m e da área II de 34 m. Já em relação à idade das árvores, na área I a média foi de 255 anos e na área II de 208 anos. Todas as amostras em ambas as áreas possuem copa tipo aberta e cerne de coloração branca. O índice de Morisita revelou distribuição agregada nas duas áreas, com valores de 4,133 para a área I e 7,320 para a área II. Em ambas as áreas, o DAP médio dos indivíduos foi superior a 100 cm e a idade acima de 200 anos. Apenas os indivíduos com idade inferior a 100 anos não estavam em período reprodutivo.

**Palavras-chave:** Castanheira, SSR, Distribuição Espacial.

**GENETIC DIVERSITY AND POPULATION STRUCTURE OF NATURAL  
POPULATIONS OF BRAZIL NUT TREE  
(*Bertholletia excelsa* B.)**

**ABSTRACT**

Vieira, Felipe Sakamoto; M.Sc.; Mato Grosso State University; February 2014; Genetic diversity and population structure of natural populations of Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa* b.). Adviser: Ana Aparecida Bandini Rossi. Counselors: Leonarda Grillo Neves e Rosana Rodrigues.

Brazil nut tree, (*Bertholletia excelsa* B.) is considered a resource symbol of sustainable development. After the economical rubber cycle falling, it was the main extractivism product. The habitat fragmentation that occurs in Amazon results in biological diversity loss, and consequently, in intraspecific genetic variability, which may be occurring with the natural populations of Brazil nut tree, since it is an Amazon species, and is found in regions with much anthropogenic perturbations. So that, the aim of this work was to analyse the population structure and genetic diversity in populations of *B. excelsa* with natural occurrence in the Southern Amazon. For the genetic diversity study, it was sampled 86 individuals distributed in two populations. The total DNA extractions followed the CTAB method with modifications, the amplifications and diversity analysis was performed based on 11 microsatellite markers described for the specie. For the population structure verification and spatial distribution, it was analyzed two areas with natural occurrence of the species in the Juruena National Park. In the two areas it was sampled all individuals with DAP greater than 10 cm. The individuals was organized in DAP class and the spatial distribution type determination was found by the Morisita index. The SSR markers revealed 70 alleles, with average of 6,36 per primer. The average heterozygosis observed was 0,4296 and the PIC 0,7235. The AMOVA showed that 19% of variation was between populations, and 81% of them within. According to the main coordinate analysis, the three first components showed 32,02% of variation. The grouping (UPGMA and Structure) showed organized individuals according to their origin population and the absence of genetically identical Individuals. The genetic variability is in greater proportion at the intra population level, and because the genetic diversity, both populations can be used as genetic resource for the species conservation. According to the population analysis, the area I, with 1200 ha, has

density of 0,119 individual ha<sup>-1</sup>, and the area II, with 500 ha, of 0,032 individual ha<sup>-1</sup>. The DAP class showed that 97,20% and 77,78% of sampled trees have DAP between 81 and 200 cm for the area I and area II respectively. The individual average height from the area I was 39 m and from area II 34 m. Regarding the tree ages in area I, the average was 255 years and in area II was 208. All samples from both areas had open type canopy and white color core. The Morisita index showed aggregate distribution in both areas, with values of 4,133 for area I and 7,320 for area II. In both areas, the DAP average was upper than 100 cm and the age more than 200 years. Only individual with age less than 100 years was not in reproductive period.

Key words: Brazil-nut-tree, SSR, spatial distribution.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A Floresta Amazônica é a maior floresta tropical conservada do mundo, representando 40% (3.900.000 km<sup>2</sup>) dos remanescentes mundiais (INPE, 2002) e abriga uma sociobiodiversidade imensa (Rylands et al., 2002; Ricardo & Ricardo, 2006).

Além de ocupar um terço da biodiversidade global, ainda abriga uma diversidade que engloba várias espécies de vertebrados, invertebrados e flora de múltiplos grupos taxonômicos. Estima-se que só a comunidade de plantas vasculares tenha cerca de quarenta mil espécies, das quais trinta mil são endêmicas (Mittermeier et al., 2003).

Estima-se que 7% da população dos estados Amazônicos (Amazônia, Acre, Amapá, Rondônia, Mato Grosso, Tocantins, Pará e Roraima, exceto Maranhão), cerca de 951.000 indivíduos, combine o extrativismo de produtos florestais não madeireiros com a caça, a pesca, o plantio de culturas alimentares e a pecuária (Souza, 2006). Desta população, cerca de 17.000 famílias, para compor a renda familiar, coletam a castanha, cuja comercialização é a atividade responsável por 10% do total da renda advinda do extrativismo (IBAMA, 2006).

A fragmentação do habitat na Amazônia resulta de diversos fatores, quase sempre produto de pressão humana (Maués, 2010). Nos últimos 30 anos a Amazônia perdeu cerca de 17% de sua cobertura florestal (Lentini et al. 2005).

Uma das alternativas sugeridas para valorizar a floresta em pé é a comercialização de produtos florestais não-madeireiros (PFNM), como a seringueira e a castanheira (Shanley et al., 2002).

A castanheira (*Bertholletia excelsa* B., 1808) é reconhecida como um dos produtos florestais não-madeireiros mais bem sucedidos, sendo considerado um recurso símbolo do desenvolvimento sustentável e estratégico para a conservação da Amazônia (Clay, 1997). Este é um dos produtos extrativistas de maior importância para as famílias que vivem nas áreas de ocorrência de *B. excelsa* (Witkoski, 2004).

*Bertholletia excelsa* B. é uma espécie nativa da região Amazônica pertencente à família Lecythidaceae, com larga aceitação nos mercados nacional e internacional, principalmente das suas amêndoas (Ribeiro et al., 1999).

Após a decadência da borracha, *B. excelsa* (castanheira-da-amazônia) passou a constituir o principal produto extrativo para exportação da região norte do Brasil, na categoria de produtos básicos. A exploração de exemplares nativos desta árvore é protegida por lei (Decreto no 1.282, de 19 de outubro de 1994) e seu fruto tem elevado valor econômico como produto extrativo florestal, mas isso não impede seu plantio com a finalidade de reflorestamento, tanto em plantios puros quanto em sistemas consorciados (Locatelli et al., 2005).

Castanheiras localizadas em comunidades extrativistas tem sido objeto de estudo de vários trabalhos de estrutura populacional (Wadt et.al, 2005; Salomão, 2009; Scoles & Gribel, 2011), no entanto, pouco se sabe sobre seu comportamento em floresta nativa.

A estrutura de populações é o estudo das variações, no tempo e no espaço, no tamanho e na densidade das populações, e dos fatores que causam essas variações (Begon et al. 1990). Estudos populacionais podem focar várias características de uma dada população, como estrutura de tamanho, de idade, espacial ou genética (Aquino et al., 2002).

Os estudos da estrutura genética em populações naturais têm o objetivo de analisar e quantificar a distribuição da variabilidade no tempo e no espaço, bem como dentro e entre populações, permitindo melhor entendimento de como a seleção está atuando em função da adaptabilidade e para delinear estratégias para conservação da variabilidade genética na natureza, manejo sustentável e melhoramento genético (Estopa, 2003; Sahyun, 2007; Rossi et al., 2009). O conhecimento da variabilidade genética tanto dentro como entre as populações dá suporte à conservação dos recursos genéticos florestais (Hamrick, 1983).

Os marcadores moleculares são definidos como sequências identificáveis de DNA, encontradas em localizações específicas do genoma, transmitidas pelas leis comuns de herança de uma geração para a outra (Semagn et al., 2006). Permitem análises rápidas através do acesso direto ao genótipo do indivíduo (Millach, 1999; Solé-Cava, 2001).

Dentre os marcadores moleculares, os microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats) são regiões do DNA compostas de pequenos motivos de 1 a 6 nucleotídeos repetidos em tandem (Tóth et al., 2000). A técnica de microssatélites revela polimorfismo em determinado loco devido às diferenças no número de vezes em que estas repetições de sequência simples ocorrem (Ferreira et al., 2007).

No sentido de integrar ferramentas moleculares de microssatélite aos estudos de genética populacional de castanheira, os objetivos deste trabalho foram:

- a) Avaliar a diversidade genética em populações naturais de castanheira com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso;
- b) Verificar a similaridade genética entre os indivíduos das populações;
- c) Identificar os genótipos mais propícios a se integrarem a bancos de germoplasma para um futuro programa de melhoramento para a espécie;
- d) Definir o padrão de distribuição espacial de castanheiras em duas áreas no Parque Nacional do Juruena;
- e) Analisar a estrutura espacial de castanheiras em duas áreas no Parque Nacional do Juruena.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Amazônia

A Amazônia Continental, localizada ao norte da América do Sul, ocupando uma área total de mais de 6,5 milhões de km<sup>2</sup>, abrange nove países: Brasil, Venezuela, Colômbia, Peru, Bolívia, Equador, Suriname, Guiana e Guiana Francesa. Entretanto, 85% deste total ficam em território brasileiro, onde ocupa mais de 5,2 milhões de km<sup>2</sup>, o que corresponde a 61% da área do país. Sua população, no entanto, corresponde a menos de 10% do total de habitantes do Brasil (Brasil, 2005).

A bacia amazônica abriga mais da metade das florestas tropicais remanescentes no mundo e também alguns dos ecossistemas com maior diversidade biológica (Capobianco et al. 2001).

O avanço da fronteira agrícola, a exploração de madeira, a abertura de estradas e os incêndios florestais representam os principais fatores de fragmentação da floresta (Nepstad et al. 1999, 2002). Na Amazônia, esses fatores vêm promovendo o empobrecimento da floresta, tornando-a vulnerável a fogos de origem natural, principalmente em anos de ocorrência do fenômeno “*El Niño*” (Nepstad et al. 2000).

A perda e fragmentação de habitat da floresta, como a floresta Amazônica, resultam em perda de biodiversidade, isolamento de populações e mudanças nos padrões de migração e dispersão das espécies (Laurance et al. 2002).

No Brasil, a exploração antrópica da Amazônia tem ocasionado a perda da sua biodiversidade devido à substituição das paisagens naturais por campo agrícola, pastagens e urbanização (Klink, 2005).

Até 2005, uma área de 127.000 km<sup>2</sup> foi desmatada na Amazônia Mato-Grossense, ultrapassando o limite legal. Existem 17.211 fragmentos florestais em tal porção. O fator isolamento de outros remanescentes florestais pode ser um fator preponderante no condicionamento do ecossistema nas áreas extremamente desmatadas, onde a extensão aberta entre dois fragmentos constitui uma “barreira” à troca genética das comunidades ecológicas, podendo elevar as taxas de extinção (ICV, 2007).

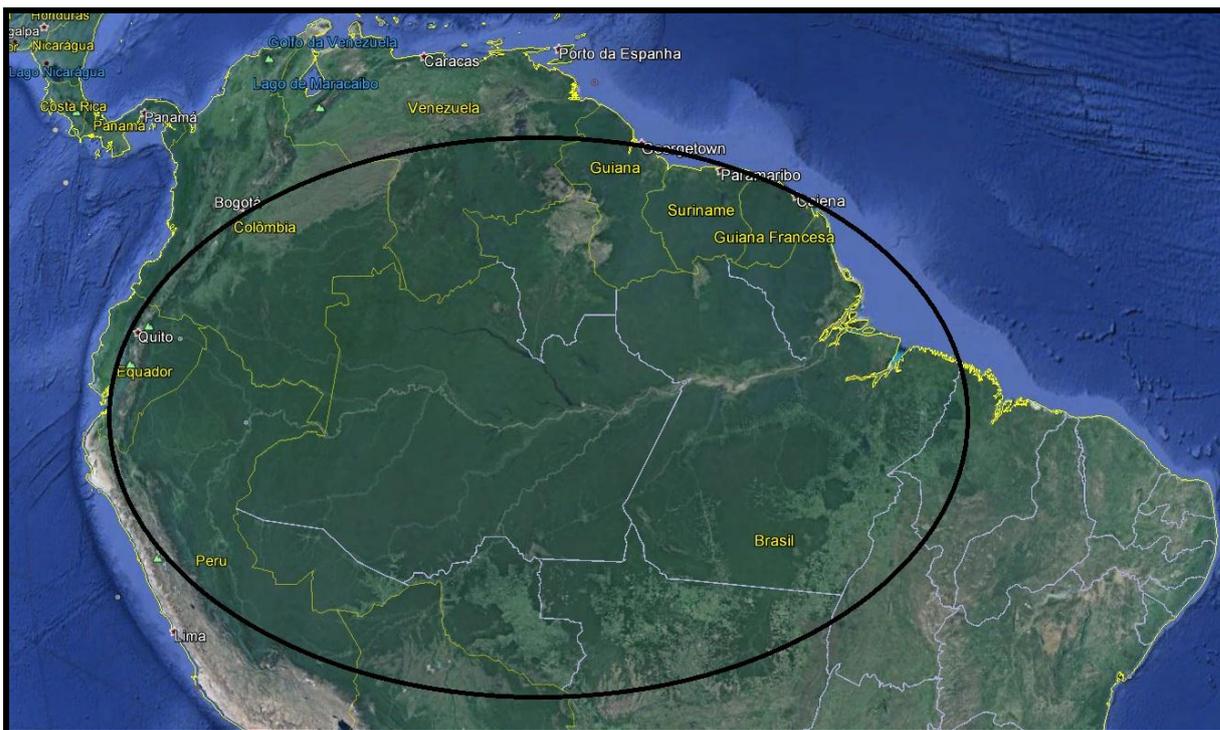
## **2.2 A Castanheira**

### **2.2.1 Taxonomia e distribuição**

*B. excelsa* é uma planta semidecídua, heliófila, característica da mata alta de terra firme, desenvolve-se bem em regiões de clima quente e úmido sendo mais freqüente em regiões com clima tropical chuvoso com a ocorrência de períodos de estiagem definidos (Lorenzi, 2000; Santos et al., 2006). A espécie ocorre na Venezuela, Colômbia, Peru, Bolívia e Guianas, mas no Brasil existe em maior número e formações compactas, nos estados do Pará, Amazonas, Acre, Maranhão, Mato Grosso, Rondônia, Amapá e Roraima (Figura 01) (Lorenzi, 2000; Pinheiro, 2004).

A castanheira é o único representante do gênero *Bertholletia* da família Lecythidaceae, grupo taxonômico formado majoritariamente por árvores de distribuição neo-tropical (Scoles, 2010).

Ocorre geralmente em aglomerados conhecidos como castanhais, os quais podem conter de poucas a centenas de castanheiras (Mori & Prance, 1990), embora possa também apresentar distribuição não agregada na paisagem (Wadt et al., 2005).



**Figura 01:** Distribuição geográfica da castanheira. Imagem: Google Earth®.

### 2.2.2 Características botânicas

As castanheiras adultas (Figura 02 A; Figura 03 A, B) chegam a medir 50 m de altura para emergir do dossel da floresta (Paiva, 2009). A castanheira apresenta caule cilíndrico, liso e desprovido de ramos, com casca escura, fendida e os ramos curvos nas extremidades (Serrano, 2005).

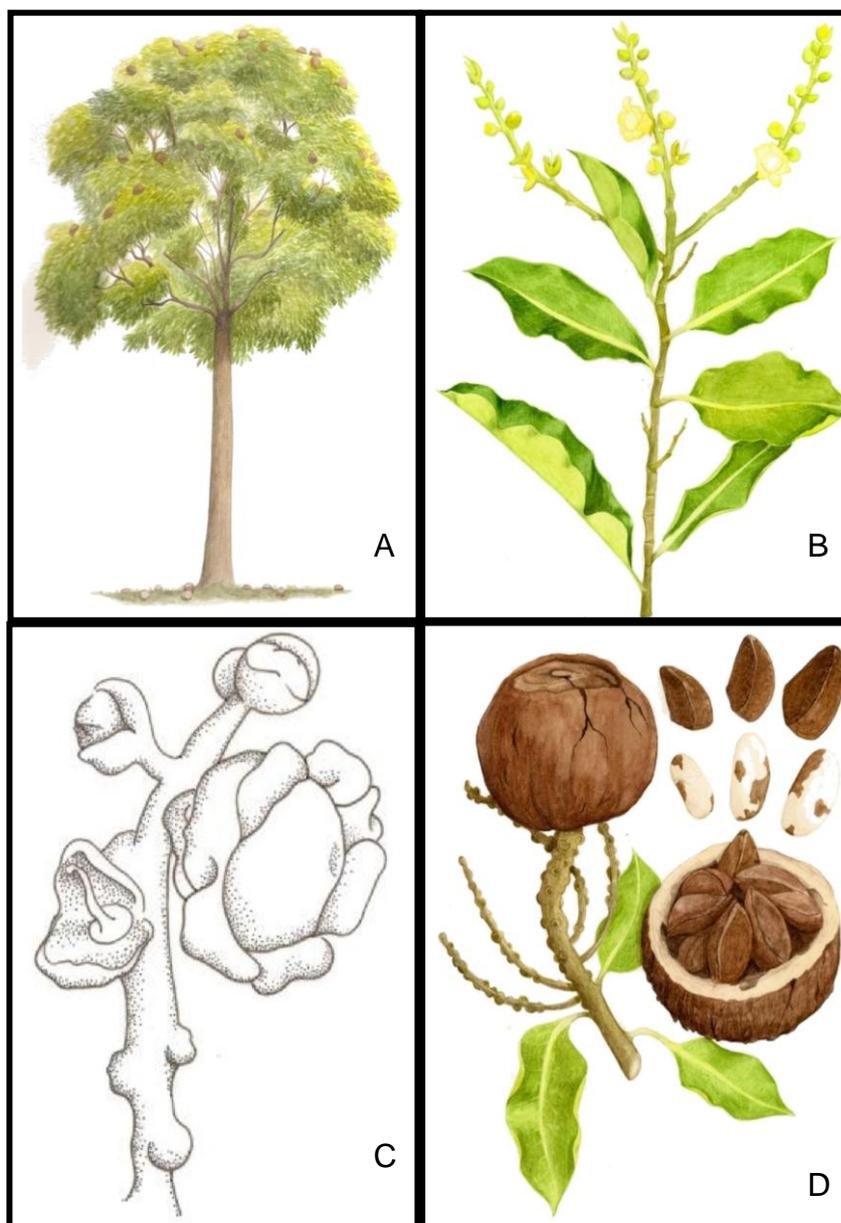
Há registros de castanheiras com troncos com mais de cinco metros de diâmetro (Salomão, 1991), e as estimativas baseadas na taxa anual de incremento diamétrico ou por datação com rádio-carbono supõem que alguns indivíduos podem ultrapassar mil anos de idade (Camargo et al., 1994; Salomão, 1991). A maior estimativa relatada é de 1.600 anos para um indivíduo com mais de 16 metros de circunferência (Clay, 1997).

Suas folhas são espaçadas, alternadas, pecioladas (Figura 02 B), de cor verde-escura, brilhosas na parte superior e pálidas na inferior. As flores (Figura 02 C) apresentam seis pétalas brancas ou brancacentas, tubulosas, grandes, dispostas em panículas terminais, eretas e se desenvolvem de outubro a janeiro (Corrêa, 1931).

É uma espécie alógama e possui a síndrome de melitofilia (polinização por abelhas). Sua flor abriga os órgãos reprodutivos em uma câmara (ula), o que

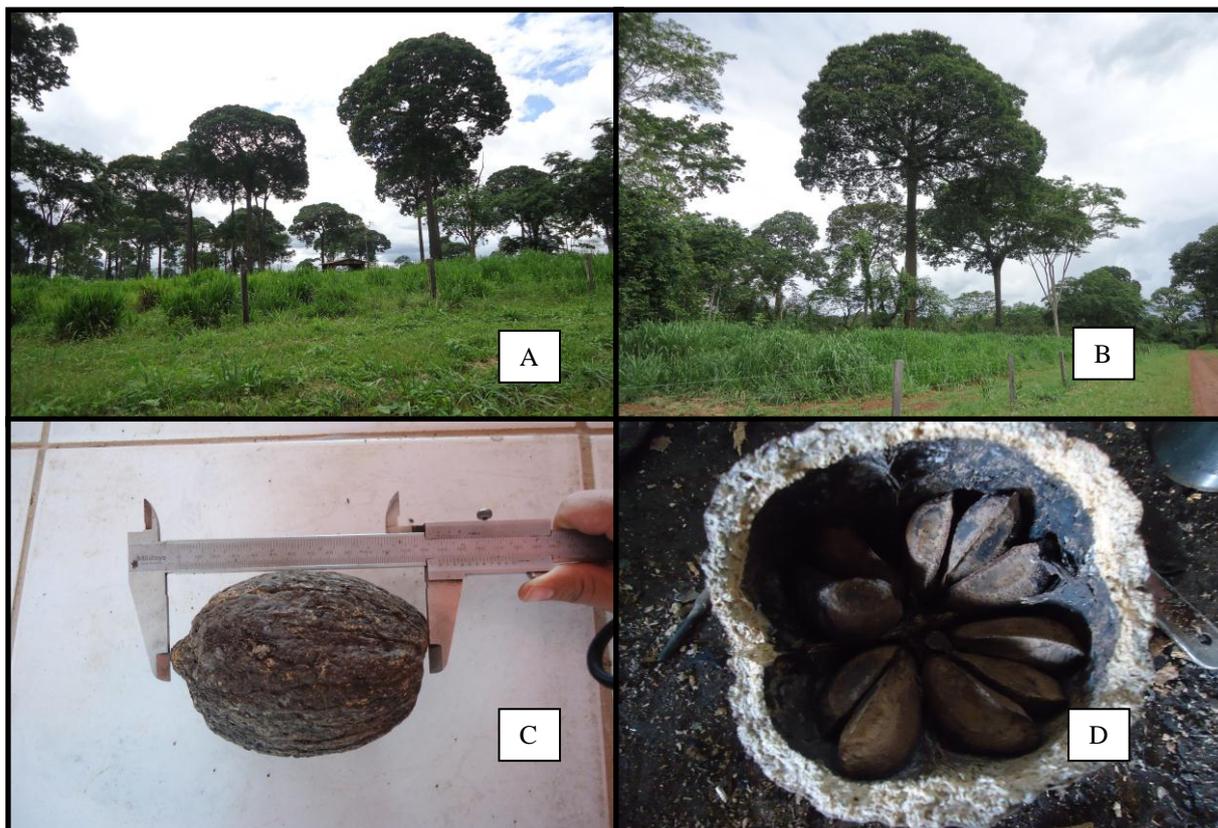
restringe os polinizadores específicos a animais de vigor físico e robustez específicos (Maués, 2002).

Após a polinização, o tempo para maturação dos frutos é de 14 a 15 meses (Maués, 2002; Cornejo, 2003). O fruto (Figura 02 D, figura 03 D) é uma cápsula globosa, quase esférica, medindo de 8 a 15 cm de diâmetro, sendo visível, na parte superior, o vestígio do cálice, contém entre 15 e 30 sementes e, quando maduros, são globosos, indeiscentes e extremamente duros, sendo o processo de abertura bastante trabalhoso (Ribeiro, 2011).



**Figura 02.:** Castanha-do-Brasil A: Aspecto geral; B: Ramo fértil; C: Inflorescência; D: Ouriços e castanhas. Fonte: Barbeiro, 2002, ilustração: Luana Ferreira.

A amêndoa (Figura 03 D), conhecida como “castanha do Brasil”, “castanha do Pará” ou “castanha da Amazônia”, é rica em gorduras, proteínas, vitaminas, sais minerais e é fundamental para a alimentação humana e de várias espécies de animais (Serrano, 2005).



**Figura 03:** Castanha-do-Brasil: A, B: Distribuição espacial de indivíduos em populações naturais; C: Detalhe do fruto; D: Detalhe da alocação das sementes dentro do fruto.

### 2.2.3 Dispersão e germinação das sementes

Poucos animais são capazes de romper a barreira física do fruto para acessar as sementes. As araras (*Ara* sp.) são grandes o bastante para agarrar o fruto enquanto dilaceram a casca com seus bicos robustos. São predadoras importantes, chegando a consumir 10% da safra antes da maturação e queda dos frutos (Trivedi et al., 2004). Pica-paus (*Campephilu rubricollis*), esquilos (*Sciurus* sp.), macacos-pregos (*Cebus apella*) e alguns pequenos roedores também são capazes de perfurar os frutos e obter as castanhas (Baider, 2000; Ortiz, 1995).

Porém, para a dispersão de suas sementes, a castanheira depende quase exclusivamente da atividade das cotias (*Dasyprocta* sp.) (Ortiz, 1995; Peres & Baider, 1997). O fruto contém um pequeno buraco em uma das pontas, o que

permite que as cutias, roam até abrir a cápsula. As cutias comem, então, algumas das castanhas que encontram dentro do ouriço e enterram as outras para uso posterior; algumas destas que foram enterradas acabam por germinar e produzem novas castanheiras (Ribeiro et al., 1999).

A atividade humana também é descrita como responsável pela distribuição geográfica da castanha. Existem fortes evidências de que a distribuição geográfica desta espécie na Amazônia esteja associada à atividade de populações humanas pré-colombianas (Shepard Jr. & Ramirez, 2011).

A germinação das sementes não é limitada pela disponibilidade de luz, mas a passagem do estágio de plântula para as próximas classes de tamanho depende de clareiras grandes (>95 m<sup>2</sup>) na floresta (Myers et al., 2000). As plântulas apresentam crescimento máximo à plena luz, e em condições de sombreamento podem retardar seu crescimento à espera de luminosidade adequada (Zuidema et al., 1999).

### **2.3 Estrutura populacional**

O conhecimento da dinâmica de populações arbóreas é essencial para o manejo florestal e a conservação dos recursos genéticos na floresta tropical (Kageyama, 1994).

Nas florestas tropicais úmidas a competição por luz é muito intensa. Espécies dominantes precisam crescer rapidamente em altura e se beneficiam da abertura de clareiras na mata, como é o caso da castanheira-do-brasil (Salomão et al., 1995).

Além da luz, a regeneração das espécies também é dependente da atuação dos dispersores, sobretudo da fauna (Salomão et al., 1995). Dependendo do modo de dispersão das sementes, as populações de espécies arbóreas tropicais apresentam diferentes padrões de distribuição espacial (Peter, 1994).

Essa distribuição é resultante de vários fatores que interagem entre si. Fatores abióticos como o tipo de solo, estresse hídrico, altitude, intensidade luminosa e fatores bióticos como polinizadores, dispersores, predadores e espécies competidoras são algumas das variáveis capazes de afetar o padrão de distribuição espacial de uma espécie (Peters, 1994; Budke et al., 2004).

Outro fator que determina a estrutura populacional de uma espécie é a distribuição do número de indivíduos em classes de tamanho (Serrano, 2005).

## **2.4 Diversidade Genética**

A genética de populações tornou-se uma ferramenta importante devido à sua finalidade de descrever a variação genética em populações e estudar os mecanismos de manutenção desta variabilidade (Nei, 1987).

A diversidade genética dentro de populações pode ser quantificada através de diferentes parâmetros, sendo os principais: proporção de locos polimórficos, riqueza alélica e heterozigosidade média (Yeh, 2000; Allendorf & Luikart, 2007).

Oscilações populacionais resultam na deriva genética que tem como consequência a fixação de alelos, situação na qual todos os indivíduos tornam-se homozigotos, ou seja, há perda da diversidade genética porque as populações têm redução no número de alelos e consequente redução populacional (Mayer et al., 2009).

O número total de alelos por loco é um bom parâmetro para estudar perda de diversidade genética e potencial evolutivo das populações, porém é altamente dependente do tamanho amostral, podendo causar viés comparativos caso sejam comparadas populações com diferentes tamanhos amostrais (Allendorf & Luikart, 2007).

A heterozigosidade média esperada se refere à proporção média de heterozigotos por loco em população panmítica ou à proporção esperada de locos heterozigotos em indivíduos selecionados aleatoriamente (Nei, 1987). Este parâmetro é considerado por Allendorf & Luikart (2007) como pouco sensível ao tamanho amostral e bastante informativo, sendo boa medida da resposta populacional à seleção, além de ser capaz de fornecer estimativas de coeficientes de endogamia e poder ser utilizado como base para análise de reduções populacionais.

Para espécies arbóreas tropicais, diversos autores relatam que o conhecimento do nível de variação genética e da sua distribuição permite direcionar estratégias de melhoramento, maximizar os ganhos genéticos e manejar as populações naturais por meio do uso racional e sustentável dos recursos, visando à conservação genética (Gribel, 2001).

Para tanto, a principal ferramenta para avaliar como esta variabilidade encontra-se distribuída dentro e entre as populações são os marcadores moleculares (Sebbenn & Etori, 2001; Telles et al., 2003).

## **2.5 Marcadores SSR**

A obtenção dos marcadores envolve a amplificação dos microssatélites via PCR, utilizando-se de primers específicos (geralmente de 20 a 25 pb), para as regiões do DNA que flanqueiam os microssatélites, ou seja desenvolvimento de primers específicos para uma espécie em estudo (Carvalho, 2009).

Marcadores SSR apresentam muitos aspectos positivos: herança codominante; transferabilidade; alto grau de polimorfismo mesmo entre linhagens próximas; cobertura genômica extensa e bem distribuída; a análise de polimorfismos de SSR é mais simples e econômica quando comparada a outras metodologias, além de demandar pequena quantidade de DNA, poder ser automatizada (Millach, 1999; Tóth et al., 2000; Semagn et al., 2006; Grattapaglia, 2007; Kalia et al., 2011). Devido a estas características, estes marcadores obtiveram considerável importância em genética de plantas e melhoramento e são a escolha atual em grande parte das áreas de genética molecular, sendo considerados excelentes para estudos de genética de populações (Oliveira et al., 2006; Semagn et al., 2006; Kalia et al., 2011).

A taxa de mutação nos marcadores SSR é, em geral, de 10 a 100 vezes maior do que em outras regiões do genoma, fazendo com que sejam consideradas sequências de alta taxa evolutiva (Ferreira et al., 2008).

Os microssatélites por serem marcadores moleculares codominantes têm sido cada vez mais utilizados como uma ferramenta eficaz para a compreensão de muitos campos da genética, como a estrutura genética de populações, fluxo gênico, análise de paternidade, viabilidade de populações, além de permitir a quantificação dos efeitos da fragmentação de habitats e estabelecer estratégias para a conservação de espécies (Lemes et al., 2003).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLENDORF, F. W.; LUIKART, G. **Conservation and the Genetics of Populations**. Blackwell Publishing, 2007. 642p.
- AQUINO, F. de G. OLIVEIRA, M. C. de; RIBEIRO, J. F.; SCHIAVINI, I. **Ecologia Populacional de Espécies Arbóreas na Estação Ecológica do Panga (Uberlândia - MG)**. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/download/40/t>. Acesso em: 01, janeiro, 2014.
- BAIDER, C. **Demografia e ecologia de dispersão de frutos de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl. (Lecytidaceae) em castanhais silvestres da Amazônia Oriental**. São Paulo. Universidade de São Paulo. 2000. 164p. (Tese de Doutorado em Ecologia).
- BEGON, M., J. L. HARPER, AND C. R. TOWNSEND. **Ecology: Individuals, populations and communities**. Blackwell, 1990, 1068p.
- BRASIL. FCO – **Fundo Constitucional de Financiamento do Centro-Oeste**. Brasília Disponível em: <http://www.bb.com.br/appbb/portal/gov/ep/srv/fed/AdmRecFCOProgAnual.jsp> Acesso em: 31, julho, 2013.
- BUDKE, J. C.; GIEHL, E. L. H.; ATHAYDE, E. A.; ZÁCHIA, R. A. Distribuição espacial de *Mesadenella cuspidata* (Lindl.) Garay (Orchidaceae) em uma floresta ribeirinha em Santa Maria, RS, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 18: 31-35, 2004.
- CAMARGO, P. B. D., et al. How old are large Brazil-nut trees (*Bertholletia excelsa*) in the Amazon? **Scientia Agricola**, 51: 389-391, 1994.
- CAPOBIANCO, J. P. R. **Biodiversidade na Amazônia brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação e uso sustentável e repartição de benefícios**. Estação Liberdade: Instituto Socioambiental, São Paulo, 2001. 540p.
- CARVALHO, A. C. M. **Fluxo de pólen e sementes em população isolada de *Copaifera langsdorfii* Desf. (LEGUMINOSAE CAESALPINIOIDEAE) em um fragmento florestal localizado em área urbana**. Ilha Solteira. Univeridade do Estado de São Paulo. 2009. 73p. (Dissertação de Mestrado em Agronomia).
- CLAY, J. W., Ed. Brazil nuts: the use of a keystone species for conservation and development. *Harvesting Wild Species: Implications for Biodiversity Conservation*. Baltimore, MD: **The John Hopkins University Press**, 1: 246-282, 1997.

CORNEJO, F. **Historia natural de la castaña (*Bertholletia excelsa* Humb & B.) y propuestas para su manejo**. Asociación para la Conservación de la Cuenca Amazônica (ACCA). Puerto Maldonado, Peru. 2003, 52p.

CORRÊA, M. PIO. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e da exótica cultivada**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 2: 129 – 131, 1931.

**Decreto Nº 1.282, de 19 de outubro de 1994. - Revogado pelo Decreto nº 5.975, de 2006.** Disponível em: [http://legislacao.planalto.gov.br/legisla/legislacao.nsf/fraWeb?OpenFrameSet&Frame=frmWeb2&Src=%2Flegisla%2Flegislacao.nsf%2FViw\\_Identificacao%2Fdec%25201.282-1994%3FOpenDocument%26AutoFramed](http://legislacao.planalto.gov.br/legisla/legislacao.nsf/fraWeb?OpenFrameSet&Frame=frmWeb2&Src=%2Flegisla%2Flegislacao.nsf%2FViw_Identificacao%2Fdec%25201.282-1994%3FOpenDocument%26AutoFramed)>. Acesso em: 20, dezembro, 2013.

ESTOPA, R. A. **Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) Mac Leish)**. Lavras. Universidade Federal de Lavras. 2003. 43f. (Monografia em Ciências Florestais).

FERREIRA C. F. Molecular characterization of cassava (*Manihot esculenta* Cranz) with yellow-orange roots for beta-carotene improvement. **Crop Breeding and Applied Genetics**, 8: 23-29, 2008.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de Caracterização Molecular de Germoplasma Vegetal. In: NASS, L. L. **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1: 377-420, 2007.

GRATTAPAGLIA D. Classification of a Brazilian strain of *Ralstonia solanacearum* regarding biovar and phylotype and analysis of its interaction with *Arabidopsis thaliana*, 2007, Brasil, Português, **24 Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Brasília, DF, 2007.

GRIBEL, R. Biologia reprodutiva de plantas amazônicas: importância para o uso, manejo e conservação dos recursos naturais. **Humanidades**, Brasília, DF, 48: 110-114, 2001.

HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. *In* Genetics and conservation (C.M. Schone-Wald-Cox, S.H. Chambers, B. MacByde & L. Thomas, eds.). **Benjamin Cummings Publishing Company**, Menlo Park, 1: 335-348, 1983.

IBAMA. **O neoeextrativismo ou agroextrativismo**. Brasília. Disponível em : <<http://www.ibama.gov.br/resex/textos/h12.htm>>. Acesso em: 01, dezembro, 2013.

INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais). **Monitoramento da floresta amazônica por satélite 2000-2001**. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Disponível em: <http://www.obt.inpe.br/prodes/index.php>. Acesso em: 01, janeiro, 2014.

IRGANG, G.; MICOL, L.; SANTOS, R. R. dos. **Análise da fragmentação da paisagem e mapeamento do valor para a conservação**. Cuiabá: Icv, 2007. 24 p.

KAGEYAMA, P.; GANDARA, F. B. Dinâmica de populações de espécies arbóreas: implicações para o manejo e a conservação. **Simpósio De Ecossistemas Da Costa Brasileira**, 3., 2: 1 – 9. 1994.

Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R and Dhawan AK Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica** 177: 309-334, 2011.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, 19: 707-713, 2005.

LAURANCE, W. F., LOVEJOY, T. E., VASCONCELOS., H. E., BRUNA, E. M., DIDHAN, R. K., STOUFFER, F. C., GASCON, C., BIERRAGAARD, R. O., LAWRENCE, S. G., SAMPAIO. E. E. Ecosystem decay of amazonian Forest fragments: a 22-year investigation. **Conservation Biology**. 16: 605-618, 2002.

LEMES, M.R.; GRIBEL, R.; PROCTOR, J.; GRATTAPAGLIA, D.. Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. **Molecular Ecology**, Oxford 12: 2875-2883, 2003.

LENTINI, M.; PEREIRA, D.; CELENTANO, D.; PEREIRA, R. **Fatos florestais da Amazônia**. Belém: Imazon, 2005. 110p.

LOCATELLI, M; VIEIRA, A. H.; GAMA, M. M. B.; FERREIRA, M. G. R.; MARTINS, E. P.; FILHO, E. P. S.; SOUZA, V. F e MACEDO, R. S. **Cultivo da Castanha-do-Brasil em Rondônia**. Sistemas de Produção, 7 ISSN 1807-1805 Versão Eletrônica Jun./2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, v. 1, 2000, 368 p.

MAUÉS, M. M.; OLIVEIRA, P. E. A. M. de. Conseqüências Da Fragmentação Do Habitat Na Ecologiareprodutiva De Espécies Arbóreas Em Florestas Tropicais, Com Ênfase Na Amazônia. **Oecologia Australis**, Uberlândia14: 238-250, 2010.

MAUÉS, M.M. **Reproductive phenology and pollination of the brazil nut tree (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl. Lecythidaceae) in Eastern Amazonia**. Pp.

245-254. In: P. Kevan, & V.L. Imperatriz-Fonseca (eds.). Pollinating Bees – The conservation Link Between Agriculture and Nature. Ministry of Environment, Brasília, DF, 2002. 313p.

MAYER, D. M., M. KUENZI AND R. GREENBAUM: 'Making Ethical Climate a Mainstream Topic: **A Review, Critique, and Prescription for the Empirical Research on Ethical Climate**', in D. De Cremer (ed.), Psychological Perspectives on Ethical Behavior and Decision Making (Information Age Publishing, Charlotte, NC), 2: 181–213, 2009.

MILLACH, S. C. K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. In: QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R., (eds.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br>. Acesso em: 14, junho, 2013.

MITTERMEIER, R.A., C.G. MITTERMEIER, T.M. BROOKS, J.D. PILGRIM, W.R. KONSTANT, G.A.B. FONSECA & C. KORMOS. Wilderness and biodiversity conservation. **Proceedings of the National Academy of Science** 100: 10309-10313, 2003.

MORI, S.A. Diversificação e Conservação das Lecythidaceae Neotropicais. **Acta Botânica Brasilica**, 4: 45-68, 1990.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853-858, 2000.

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.

NEPSTAD, D., A. MOREIRA, AND A. ALENCAR. **Flames in the Rainforest: Origins, Impacts and Alternatives to Amazon Fire. Pilot Program for the Conservation of the Rainforests of Brazil**, World Bank, 1999. 140p.

NEPSTAD, D., A. VERÍSSIMO, P. MOUTINHO; C. NOBRE. O empobrecimento oculto da floresta Amazônica. (The hidden impoverishment of Amazon forests.) **Ciencia Hoje** 27: 70-73. 2000.

NEPSTAD, D., MCGRATH, D., ALENCAR, A., BARROS, A., CARVALHO, G., SANTILLI, M. VERA DIAS, C. Frontier Governance in Amazonia. **Science** 295: 629-630, 2002.

- OLIVEIRA, E. J. et al. **Origin, evolution and genome distribution of microsatellites**. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 294-307, 2006.
- ORTIZ, E. G. Survival in a nutshell (Brazil nut trees). *Americas*, 6: 6-17. 1995.
- PAIVA, P. M. V. de. **A Coleta Intensiva E A Agricultura Itinerante São Ameaças Para Os Castanhais Da Reserva Extrativista Do Rio Cajari?** Macapá. Universidade Federal do Amapá. 2009. 106p. (Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical).
- PERES, C. A.; BAIDER C. Seed dispersal, spatial distribution and population structure of Brazilnut trees (*Bertholletia excelsa*) in southern Amazonia. *Journal of Tropical Ecology*, 13: 595-616. 1997.
- PETER M. C. **Sustainable Harvest of Non-timber Plant Resources in Tropical Moist Forest: An Ecological Primer**. Biodiversity Support Program, Washington, DC. 1994, 61p.
- PINHEIRO, M. dos R. R. **Estudo de variabilidade genética de *Aspergillus flavus* como base para o desenvolvimento de PCR Multiplex para detecção de fungos produtores de aflatoxinas em castanha-do-brasil e castanha de caju**. Brasília. Universidade Católica de Brasília. 2004. 149 p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia).
- RIBEIRO, J. E. L. S., NELSON, B. W., SILVA, M. D., MARTINS, L. S. S., & HOPKINS, M. (1994). Reserva Florestal Ducke: diversidade e composição da flora vascular. *Acta Amazonica*, 24: 19-30, 1999.
- RIBEIRO, M. B. N. **Ecologia, manejo e sustentabilidade da exploração da castanha-da-amazônia (*Bertholletia excelsa*) pelos índios kayapó, sudeste da amazônia**. Manaus. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2011. 155p. Tese (Doutorado em Ecologia).
- RIBEIRO, M. B. N. **Ecologia, Manejo E Sustentabilidade Da Exploração Da Castanha-Da-Amazônia (*Bertholletia excelsa*) Pelos Índios Kayapó, Sudeste Da Amazônia**. Manaus. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2011. 155p. (Tese de Doutorado em Ecologia).
- RICARDO, B.; RICARDO, F. 2006. **Povos Indígenas no Brasil 2001/2005**. Instituto Socioambiental, São Paulo. 879pp.
- ROSSI, A. A. B.; OLIVEIRA, L. O.; VENTURINI, B. A.; SILVA, R. S. Genetic diversity and geographic differentiation of disjunct Atlantic and Amazonian populations of

- Psychotria ipecacuanha* (Rubiaceae). **Genetics**, Springer Netherlands 136: 57–67, 2009.
- RYLANDS, A.B. et al. Amazonia. In: R.A. Mittermeier, C.G. Mittermeier, P. Robles Gil, J. Pilgrim, G.A.B. da Fonseca, T. Brooks & W.R. Konstant (eds.). **Wilderness: Earth's Last Wild Places**. 27: 56-107, 2002.
- SAHYUN, S. A. **Variabilidade genética de populações de espinheira santa (*Maytenus aquifolium*) por marcadores moleculares**. Londrina. Universidade Estadual de Londrina. 2007. 89p. (Dissertação de Mestrado em Genética).
- SALOMÃO R. P.; ROSA N. A.; NEPSTAD D. C.; BAKK A. Estrutura populacional e breve caracterização ecológica – econômica de 108 espécies arbóreas da floresta amazônica brasileira – I. **Interciência**, 20: 20 – 29, 1995.
- SALOMÃO, R. P. Estrutura e densidade de *Bertholletia excelsa* H. & B. ("Castanheira") nas regiões de Carajás e Marabá, estado do Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, 7: 47-68, 1991.
- SALOMÃO, R.P. Densidade, estrutura e distribuição espacial da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H. & B.) em dois platôs de floresta ombrófila densa na Amazônia setentrional brasileira. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi Ciências Naturais**, 4: 11-5, 2009.
- SANTOS, D.; SARROUH, B.; SANTOS, J.; PÉREZ, V.; SILVA, S. Potencialidades e aplicações da fermentação semi-sólida em Biotecnologia. **Janus**, 4: 164-183, 2006.
- SCOLES, R. **Ecologia e extrativismo da castanheira (*Bertholletia excelsa*, *Lecythidaceae*) em duas regiões da amazônia brasileira**. Manaus. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. 2010. 209p. (Tese de Doutorado em Ecologia).
- SCOLES, R.; GRIBEL, R. Population Structure of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, *Lecythidaceae*) Stands in Two Areas with Different Occupation Histories in the Brazilian Amazon. **Hum Ecol**, Rio de Janeiro, 10: 455-464, 2011.
- SEBBENN, A.M.; ETTORI, I.C. Conservação genética *ex situ* de *Esenbeckia leiocarpa*, *Mtracrodruon urundeuva* e *Peltophorum dubium* em teste de progênes misto. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, 13: .201-2011, 2001.
- SEMAGN, K.; BJØRNSTAD, Å. and NDJIONDJOP, M.N. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. **African Journal of Biotechnology**, 25: 2569-2587, 2006.

- SERRANO, R. O. P. **Regeneração e estrutura populacional de *Bertholletia excelsa* h. B. K. Em áreas com diferentes históricos de ocupação, no vale Do Rio Acre (Brasil)**. Rio Branco. Universidade Federal do Acre. 2005. 59p. (Dissertação de Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos).
- SHANLEY, P.; LUZ, Leda; SWINGLAND, I. The faint promise of a distant market: a survey of Belém's trade in non-timber forest products. **Biodiversity and Conservation**, 11:615-636, 2002.
- SHEPARD J. R.; GLENN H.; HENRI RAMIREZ. "Made in Brazil": Human Dispersal of the Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) in Ancient Amazonia. **Economic Botany**, 25: 44-65, 2011.
- SOLÉ-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: ATIOLI, S. R. (ed.). **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto, SP: Ed. Holos, 2001. 202p.
- SOUZA, I. F.de. **Cadeia produtiva de Castanha-do-brasil**. Campo Grande. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. 2006. 152p. (Dissertação de Mestrado em Agronegócios).
- TELLES, M.P.C., F.D. VALVA, F.L. BANDEIRA, A.S.C. COELHO. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. - Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, 26: 123-129, 2003.
- TÓTH, G.; GÁSPARI, Z.; JURKA, J. Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. **Genome Research**, 10: 967-981, 2000.
- TRIVEDI, M. R.; CORNEJO F. H.; WATKINSON A. R. Seed Predation on Brazil Nuts (*Bertholletia excelsa*) by Macaws (Psittacidae) in Madre de Dios, Peru. **Biotropica**, 36: 118-122, 2004.
- WADT, L.H.O.; KAINER, K.A.; GOMES-SILVA, D.A.P. Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in Southwestern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, 211: 371-384, 2005.
- WITKOSKI, A. C. Florestas de trabalho: os camponeses amazônicos de várzea e as formas de uso de seus recursos naturais. **II Encontro da ANPPAS**. p. 30, 2004.
- YEH, F. C. Population Genetics. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (eds.). **Forest Conservation Genetics: Principles and Practice**. Wallingford: CABI Publishing, 12: 21-37, 2000.

ZUIDEMA, P. A.; DIJKMAN W.; RIJSOORT J. V. **Crecimiento de plantines de *Bertholletia excelsa* H.B.K. en función de su tamaño y la disponibilidad de luz.** *Ecología en Bolivia*,33: 23-35. 1999.

## **4. CAPÍTULOS**

**CAPITULO I: Diversidade Genética de Populações de Castanha do Brasil  
(*Bertholletia excelsa* B.) com Ocorrência Natural na Amazônia Meridional**

## RESUMO

Vieira, Felipe Sakamoto; M.Sc.; Universidade do Estado de Mato Grosso; Fevereiro de 2014; Diversidade Genética de Populações de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* B.) com Ocorrência Natural na Amazônia Meridional . Orientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi. Conselheiras: Leonarda Grillo Neves e Rosana Rodrigues.

A castanheira (*Bertholletia excelsa* B.), pertence à família Lecythidaceae. Com a fragmentação do habitat, áreas contínuas de floresta são reduzidas a pequenas porções isoladas, como ocorre com a castanheira. O conhecimento da variabilidade genética dá suporte à conservação dos recursos genéticos florestais, o qual pode gerar subsídios para a estruturação de um banco de germoplasma para a espécie. O objetivo deste estudo foi analisar a diversidade genética entre e dentro de populações naturais de *Bertholletia excelsa* B. no norte do estado de Mato Grosso. Foram delimitadas duas áreas com ocorrência natural de castanheiras, localizadas em Alta Floresta, MT, que constituíram as duas populações de estudo (AGRO e CAR). Na população AGRO foram amostrados 36 indivíduos e na população CAR 50 indivíduos. O DNA genômico foi extraído pelo método CTAB com modificações. Foram utilizados 11 marcadores SSR descritos para a espécie. O valor da divergência genética média foi de 0,7618, a heterozigozidade média (observada) foi de 0,4296 e o PIC médio foi de 0,7235. Os três primeiros componentes da análise das coordenadas principais explicam 32,02% da variação. Segundo a AMOVA, 81% da variabilidade encontra-se entre os indivíduos dentro da população. Os dendrogramas gerados pelo método UPGMA formaram dois grupos bem definidos, um formado pelos indivíduos da população AGRO e o outro pelos indivíduos da população CAR. Assim como no agrupamento do "Structure". A variabilidade genética é maior em nível intrapopulacional do que interpopulacional. Por existir variabilidade genética em ambas as populações, e não haver indivíduos geneticamente idênticos ou muito próximos, ambas as populações podem ser fonte de genótipos para bancos de germoplasma e para um futuro programa de melhoramento.

Palavras-chave: Castanheira, variabilidade genética, marcadores SSR.

## ABSTRACT

Vieira, Felipe Sakamoto; M.Sc.; Mato Grosso State University; February 2014; Genetic diversity of Brazil nut tree (*Bertholletia excelsa* B.) populations naturally occurring in southern amazon Adviser: Ana Aparecida Bandini Rossi. Counselors: Leonarda Grillo Neves e Rosana Rodrigues.

Brazil nut tree, (*Bertholletia excelsa* B.) belongs to the Lecythidaceae family. Because the habitat fragmentation, forests continuous areas were reduced to small isolates portions, as occur to the Brazil nut tree. The genetic variability knowledge gives supports to forest genetic resources conservation which can give data for a germplasm bank structuring for the species. The aim of this work was to analysis the genetic diversity among and within natural populations of *Bertholletia excelsa* in Northern Mato Grosso State. It was delimited two areas with natural occurrence of Brazil nut tree, in in Alta Floresta, Northern Mato Grosso State that composed the two studied populations (AGRO and CAR). In the AGRO population it was sampled 36 individuals and in the CAR population, 50 individuals. The genomic DNA was extracted by the CTAB method with modifications. It was used 11 SSR markers described for the specie. The average genetic divergence value was 0,7618, the average heterozygosis observed was 0,4296 and the average PIC was 0,7235. The three first components of analysis of the main coordinates explain 32,02% of the variation. According to the AMOVA, 81% of variability is among individuals within the population. The dendrograms generated by the UPGMA method formed two well defined groups: one of individuals from AGRO population and other from CAR population individuals, as well as in the "Structure" grouping. Because the genetic variability in both population with no identical individuals or very close, both populations can be genebanks genotypes source for future breeding programs.

**Key words:** Brazil nut tree, genetic variability, SSR markers.

## INTRODUÇÃO

A castanheira (*Bertholletia excelsa* B.), pertencente à família Lecythidaceae, é considerada uma das plantas de maior valor da Floresta Amazônica. Trata-se de uma árvore “intimamente ligada à cultura das populações tradicionais da Amazônia, seus produtos e subprodutos são utilizados há várias gerações, como fonte de alimentação e renda” (Cunha & Dantas, 1997). Embora sua extração e derrubada estejam proibidos por decreto federal desde 1994 e apesar de sua importância e do potencial de mercado, nacional e internacional, a espécie está ameaçada de extinção, como consequência do avanço da fronteira agrícola na Amazônia que vem reduzindo progressivamente as populações naturais da espécie.

A fragmentação do habitat reduz áreas contínuas de floresta a pequenas porções isoladas, diminuindo o número efetivo de árvores adultas de uma população, ou seja, o número de indivíduos doadores de pólen, e pode também diminuir a população dos agentes polinizadores, aumentar a taxa de autofecundação, e mudar a composição dos grupos de polinizadores (Cascante et al., 2002; Quesada & Stoner, 2003; Maués, 2006).

Como espécies arbóreas são organismos de vida longa e a fragmentação das florestas brasileiras é relativamente recente, os efeitos da fragmentação florestal sobre a diversidade genética, endogamia e estrutura genética espacial são difíceis de serem observados diretamente em amostras de indivíduos reprodutivos (Aguilar et al., 2010; Gaino et al., 2010; Sebbenn et al., 2010).

A expressão de variabilidade genética (ou biodiversidade molecular) é utilizada para se referir à diversidade de alelos existentes nos vários locos gênicos de uma espécie (Ferreira, 2008).

O estudo da variabilidade genética intraespecífica e o conhecimento de como esta variabilidade está estruturada no espaço, são importantes para delinear estratégias de conservação genética, manejo sustentável e melhoramento genético de uma espécie (Kageyama et al., 2003; Estopa, 2003; Sahyun, 2007; Rossi et al., 2009; Rivas et al., 2013).

O conhecimento da variabilidade genética tanto dentro como entre as populações dá suporte à conservação dos recursos genéticos florestais (Hamrick, 1983). Assim o desenvolvimento de estratégias para a conservação genética de uma

espécie passa pelo estudo da distribuição da variabilidade genética entre e dentro de suas populações.

As características morfológicas são muito utilizadas para a caracterização de uma espécie, mas os marcadores moleculares fornecem uma abordagem mais específica de cada indivíduo e são muito mais eficientes para a determinação da variabilidade genética, por analisarem diretamente o material genético (Yanaka, 2005).

Os marcadores moleculares baseados na amplificação de microssatélites, também denominados de repetições de sequências simples (simple sequence repeats; SSRs), compreendem uma classe de DNA repetitivo composto de pequenas sequências de 1 a 4 nucleotídeos repetidos adjacentes que se encontram dispersos no genoma (Schlötterer & Pemberton, 1998).

Estes marcadores são co-dominantes, hipervariáveis, apresentam variações de comprimento entre os alelos e estão distribuídos aleatoriamente pela região eucromática do genoma, embora sejam raros nas regiões codificadoras (Hancock, 1999; Schlötterer & Wiehe, 1999).

Hoje, os microssatélites são um dos mais poderosos métodos para estudos genéticos de populações (Selkoe & Toonen, 2006). Podem ser utilizados para a determinação do grau de relação entre indivíduos e/ou grupos de uma mesma espécie (Blouin et al., 1996), para análise de ascendência teste de paternidade (Isagi et al., 2004) ou ainda como ferramenta para avaliar os níveis de endogamia de uma população (Arbeláez-Cortes et al., 2007),

Neste contexto, o presente estudo objetivou analisar a diversidade genética entre e dentro de populações naturais de *Bertholletia excelsa* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso.

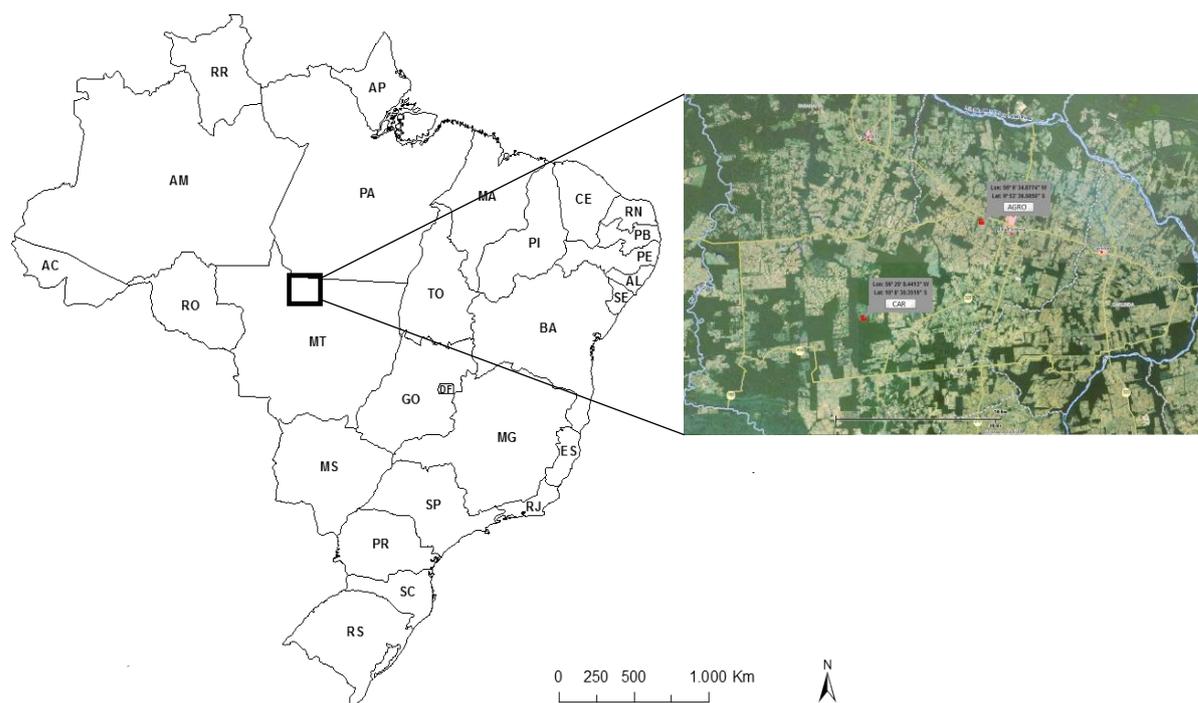
## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

O presente estudo foi realizado em duas áreas na Amazônia meridional, localizadas em Alta Floresta, MT (Figura 01). Em cada área foi amostrada uma população de *B. excelsa*. Neste caso foi adotada a definição estatística de população de Sokal & Rohlf (1969), segundo os quais população se refere ao conjunto de indivíduos que existe dentro de determinada área de amostragem, limitada em espaço e tempo, sobre os quais são feitas inferências estatísticas. A primeira população está situada na MT 208, Fazenda Agrocondor II (AGRO); a segunda, Fazenda Carolina (CAR), localizada na Vicinal 4ª Oeste, (Figura 01). A população AGRO encontra-se em pasto, é formada predominantemente de árvores altas (altura estimada superior a 30 m), onde foram amostrados 36 indivíduos. Já a população CAR está localizada em pasto recém formado e seus indivíduos possuem altura estimada inferior a 30 m, nesta população foram amostrados 50 indivíduos.

Alta Floresta possui uma área de 9.310,27 km<sup>2</sup>, está localizada no extremo Norte do estado de Mato Grosso, as coordenadas geográficas de 55° 30' a 57° 00' longitude W e 9° 00'e 11° 00' latitude S (Prefeitura Municipal de Alta Floresta, 2013).

O clima é do tipo AWI – classificação Koopen – clima tropical chuvoso com nítida estação seca e com temperaturas entre 20° e 38°C. No tocante a pluviosidade, pode atingir médias muito elevadas, algumas vezes superiores a 2.750 mm. O município está entre 250 a 450 m acima do nível do mar, com solos variáveis, predominando o grupo de Podzólico (Amarelo e Vermelho-Amarelo) e, em pequenos percentuais, Latossolos e Hidromórficos (Prefeitura Municipal de Alta Floresta, 2013)



**Figura 01:** Localização geográfica das duas populações de estudo. Fonte: SEMA (2014).

### **Amostragem das populações e coleta de material**

Foram amostrados 86 indivíduos nas duas populações de *B. excelsa*, sendo 36 na população AGRO e 50 na população CAR, distantes geograficamente entre si por 50 km em linha reta. De acordo com Leberg (2002), tamanhos amostrais grandes resultam em melhores estimativas da riqueza alélica, porém, a partir de certo ponto, o aumento no número de indivíduos amostrados não acarreta em aumento da variabilidade genética captada, ou seja, a relação entre o tamanho amostral e a riqueza alélica é assintótica. Segundo Freeland (2005), o tamanho amostral ideal é de no mínimo de 30 a 40, porém isso depende da variabilidade do loco em análise. Berg & Hamrick (1997) afirmam que tamanhos amostrais de 30 indivíduos por população podem ser considerados suficientes para a estimativa das frequências alélicas dentro das populações quando os marcadores utilizados apresentam locos com padrão de herança codominante, caso dos marcadores aqui utilizados.

A amostragem foi realizada de maneira aleatória, com o maior espaçamento possível entre indivíduos, visto que, mesmo em população com distribuição espacial contínua, a reprodução cruzada pode ser restrita a pequenas distâncias devido ao

baixo alcance da dispersão, diferenciando as populações (Wright, 1943). Além disso, tal diferenciação genética pode também ser favorecida pelas próprias variações naturais do ambiente (Meffe & Carrol, 1994). Todos os indivíduos amostrados nas duas populações foram georreferenciados e medidos quanto ao DAP (diâmetro a altura do peito).

De cada indivíduo amostrado foi coletado material foliar com o auxílio de atiradeira manual. Foram coletadas preferencialmente folhas jovens, sem danos mecânicos ou sinais de doença. Todo o material foliar coletado foi identificado, ainda em campo e armazenado em sílica gel. O material foi transportado para o laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Campus Universitário de Alta Floresta, para a realização dos procedimentos laboratoriais.

## **Procedimentos laboratoriais**

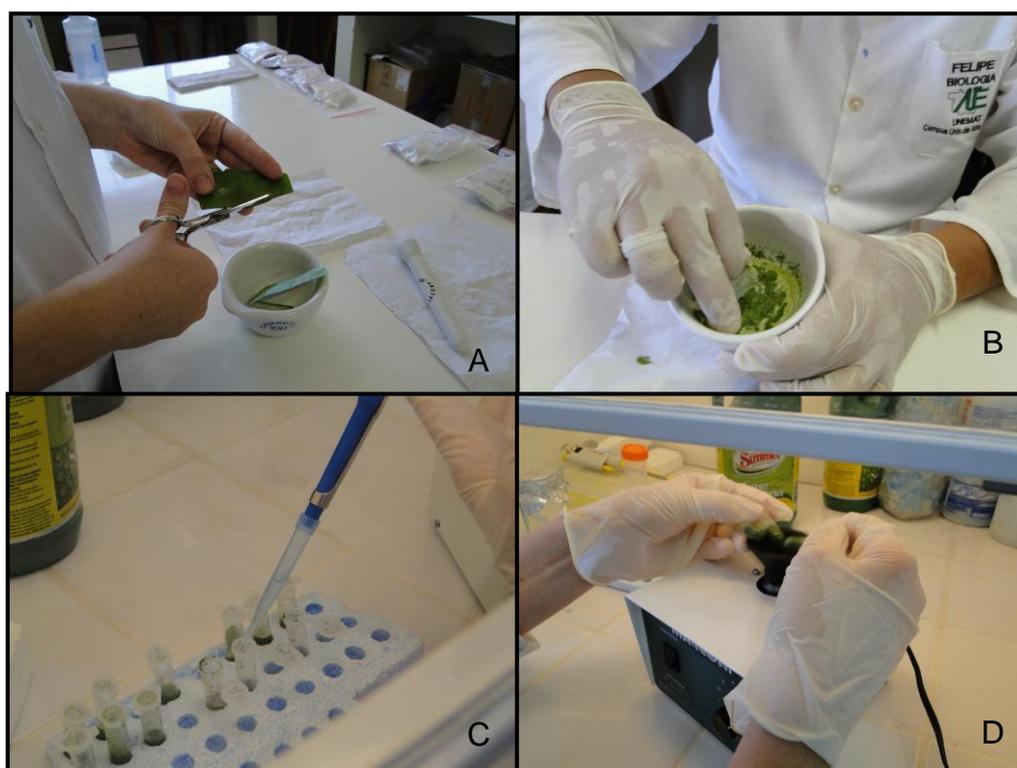
### **Extração e quantificação de DNA**

O DNA genômico total foi extraído (Figura 02) de aproximadamente 100 mg de folhas seguindo o método CTAB descrito por Doyle & Doyle (1987) com modificações: aumento da concentração de polivinilpirrolidona (PVP) de 1% para 2% e de  $\beta$ -mercaptoetanol de 0,2% para 3% no tampão de extração, além da redução do tempo de incubação a 65°C de 60' para 05'. As extrações de DNA foram realizadas no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Campus Universitário de Alta Floresta – UNEMAT.

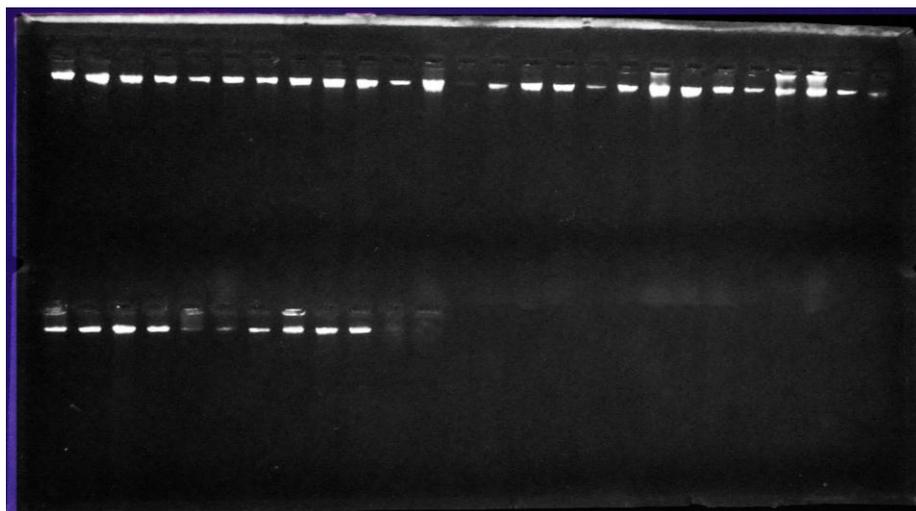
O tecido foliar foi lavado em água corrente e seccionado com auxílio de tesoura. Com almofariz e pistilo, o tecido foi macerado na presença de nitrogênio líquido. O produto resultante foi transferido para microtubos de 2 mL, ao qual foram adicionados 800  $\mu$ L de tampão de extração CTAB (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M cloreto de sódio; 20 mM EDTA; 3% CTAB; 2% polivinilpirrolidona (PVP) e 1,8%  $\beta$ -mercaptoetanol) foram agitados em vórtex e incubados em banho-maria a 65°C por 5 minutos. Após resfriamento a temperatura ambiente, foram adicionados 700  $\mu$ L de clorofórmio:álcool isoamílico 24:1 (v:v). Os tubos foram agitados por aproximadamente 1 minuto em vórtex e centrifugados a 13.000 rpm em micro centrífuga por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo 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

13.000 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 ressuspensionado em 300  $\mu$ L de TE 0,1 mM (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0) e a solução incubada em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Posteriormente, os microtubos foram armazenados em geladeira (4°C) por 24 h e depois em freezer (-20°C).

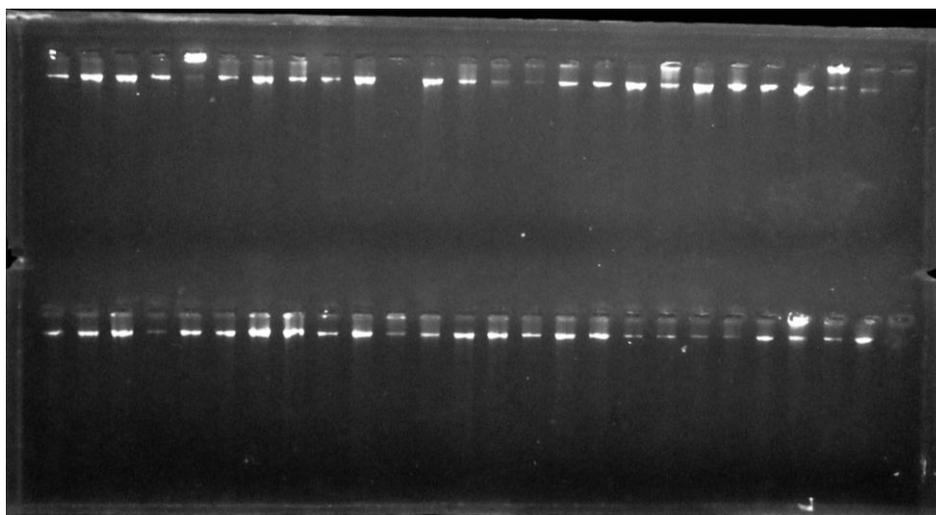
A qualidade e a quantificação do DNA foram feitas através da técnica de eletroforese em gel de agarose (Figura 03, 04) 0,8% corado com brometo de etídio (Ferreira & Grattapaglia, 1998). A partir da quantificação foi feita a diluição das amostras de DNA em água destilada para a concentração de 5  $\eta$ g/ $\mu$ L (Ferreira & Grattapaglia, 1998).



**Figura 02.** Extração de DNA total. A: Secção manual do material vegetal com auxílio de tesoura; B: Transferencia do material mascerado para microtubo; C: Adição do tampão de extração; D: Agitação dos microtubos em vórtex.



**Figura 03:** Padrão eletroforético do DNA extraído dos indivíduos de castanheira provenientes da população AGRO.



**Figura 04:** Padrão eletroforético do DNA extraído dos indivíduos de castanheira provenientes da população CAR.

### **Amplificação e genotipagem de locos microssatélites**

As regiões com microssatélites foram amplificadas através da PCR (Polymerase Chain Reaction), utilizando 11 primers SSR desenvolvidos por Rafalski et. al, (1996) para *B. excelsa*: Bex01, Bex02, Bex03, Bex06, Bex12, Bex22, Bex27, Bex30, Bex32, Bex33 e Bex37 (Tabela 01).

Cada Reação de PCR foi realizada em um volume total de 13  $\mu$ L contendo: 10 mM Tris-HCl (pH 8.3); 50 mM KCl; 0.1% de tween 20; 2,5 mM  $MgCl_2$ ; 0,2 mM de cada dNTP; 1 mM de cada *primer*, 0,05 U de Taq DNA polimerase (5U/ $\mu$ l), aproximadamente 10 ng de DNA template e água destilada e autoclavada. As

amplificações foram conduzidas em termociclador MJ 96 (Biocycler®) com o programa de amplificação descrito por Reis et. al (2009): 1 ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 5 minutos, seguido por 30 ciclos de 94°C por 45 segundos, 44-60°C (de acordo com o *primer* utilizado) por 45 segundos e 72°C por 30 minutos e 1 ciclo de extensão final de 72°C por 7 minutos, para os *primers*: Bex01, Bex02, Bex03, Bex06, Bex12, Bex30, Bex32, Bex33 e Bex37. Para os *primers* Bex22 e Bex27 utilizou-se as seguintes condições da amplificação: 1 ciclo inicial de desnaturação a 96°C por 2 minutos, seguido por 35 ciclos de 94°C por 45 segundos, 56,8°C por 45 segundos e 72°C por 30 minutos e 1 ciclo de extensão final de 72°C por 7 minutos.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 3% (m/v) em tampão de corrida TBE 1X, em voltagem aproximada de 100 V por cerca de quatro 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 (Invitrogen™).

Em seguida o gel foi fotografado quando irradiado por luz ultravioleta pelo Transiluminador UVB LTB-21x26 (Loccus Biotecnologia®) e câmera digital (Sony®).

### **Análise dos dados**

As fotodocumentações foram ajustadas pelo programa Adobe Photoshop CS6®. Os fragmentos de SSR foram avaliados de acordo com seu tamanho (pb) com auxílio do programa GelQuant Pro® (DNR, 2006) e utilizados para montagem da matriz por *primer*. Os dados da matriz foram analisados pelo programa GenAlEx 6.5® (Peakall & Smouse 2006, 2012) para a obtenção da análise das coordenadas principais (PCA) e da variância molecular (AMOVA), utilizada para inferir sobre a estrutura genética das populações por meio da decomposição total nas componentes entre e dentro de populações.

Para a determinação da frequência alélica, da diversidade gênica, da heterozigosidade observada e esperada e do PIC (Conteúdo de informação de polimorfismo) utilizou-se do programa Power Marker V.3.25 (Liu & Mouse, 2005). A matriz dos valores de distância genética de Nei (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 de dendrogramas utilizando o método NJ (Neighbor Joining), vizinho mais próximo.

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 propostos por Pritchard & Wen (2004) e também o critério proposto por Evano et al. (2005), sendo os resultados enviados para o site Structure Harvester (Earl, 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 11 *primers* de SSR utilizados para a genotipagem dos 86 indivíduos de *Bertholletia excelsa* estão representados na Tabela 01.

O número total de alelos obtidos foi de 70, com média de 6,36 alelos por *primer*. O número máximo de alelos por iniciador foi de 9 (Bex22 e Bex33) e o mínimo 4 (Bex12). Reis et. al (2009) ao otimizar os mesmos marcadores obteve média superior a encontrada neste estudo de (9,09 alelos por *primer*).

**Tabela 01:** *Primers* SSR utilizados para a amplificação dos indivíduos *B. excelsa* amostrados nas duas populações. Tm: Temperatura de anelamento

Código do <i>primer</i>	Sequências 5' → 3'	Tm (°C)
Bex01F	TTCCAGGCATTTTGTTACAG	56
Bex01R	CAAGAGCGCAGGAGAAGATT	
Bex02F	GCCATGTTCTCTACAGTCTC	56
Bex02R	AGTCGGACATCCTTCGTGCT	
Bex03F	CTACCTACAGGTCCGTGCCA	60
Bex03R	CGTATTTTCGTGTCAAACCTCT	
Bex06F	TTGATCTTCGCAAGGTCGGT	57,8
Bex06R	ACTTCCTCAATCCATCGAGT	
Bex12F	AATTAGCAACAATGCACTGA	56
Bex12R	ATTCCGTAACATGCTCTTCT	
Bex22F	GCATTCTCTCATTTTCGCTTG	57,8
Bex22R	CCCTAGCAATCGTCGTCTTC	
Bex27F	ACTGTTCTGATCCGCCATGT	57,8
Bex27R	TTTCGACCGTTCAAATACGC	
Bex30F	TGGAACGGTCACTTGAGACA	60
Bex30R	CCCTCTCTCCTTCGCTTTTT	
Bex32F	CCCTCCCCATCTTGAGTAG	56
Bex32R	CAACCCCTCCTTTTACCATTT	
Bex33F	CAAGTCTCTGACTCATCGCCTA	57,8
Bex33R	ACCAGGTTCCAGCAGACGTTC	
Bex37F	TGCATGCTATGTTTCATTGCT	60
Bex37R	CACGCAACCTCACAGTCTTG	

O PIC variou de 0,6725 (Bex01) a 0,8030 (Bex22), com uma média de 0,7235 (Tabela 02). Botstein et al. (1980) descreve que marcadores que obtêm valores de PIC abaixo de 0,2500 são considerados pouco informativos, aqueles que revelam valores entre 0,2500 e 0,500 são classificados como medianamente informativos e acima de 0,500 muito informativos, logo, todos os *primers* utilizados neste estudo são considerados muito informativos, pois todos apresentaram PIC acima de 0,500, com destaque para os marcadores Bex22, Bex27, Bex06 e Bex30, os quais apresentaram valores superiores a 0,7500.

A média da heterozigidade observada foi de 0,4296 com valor máximo de 0,6824 para o *primer* Bex06 e mínimo de 0,1667 para o *primer* Bex12. A heterozigidade esperada apresentou média de 0,8252, estando sempre acima da observada em todos os marcadores.

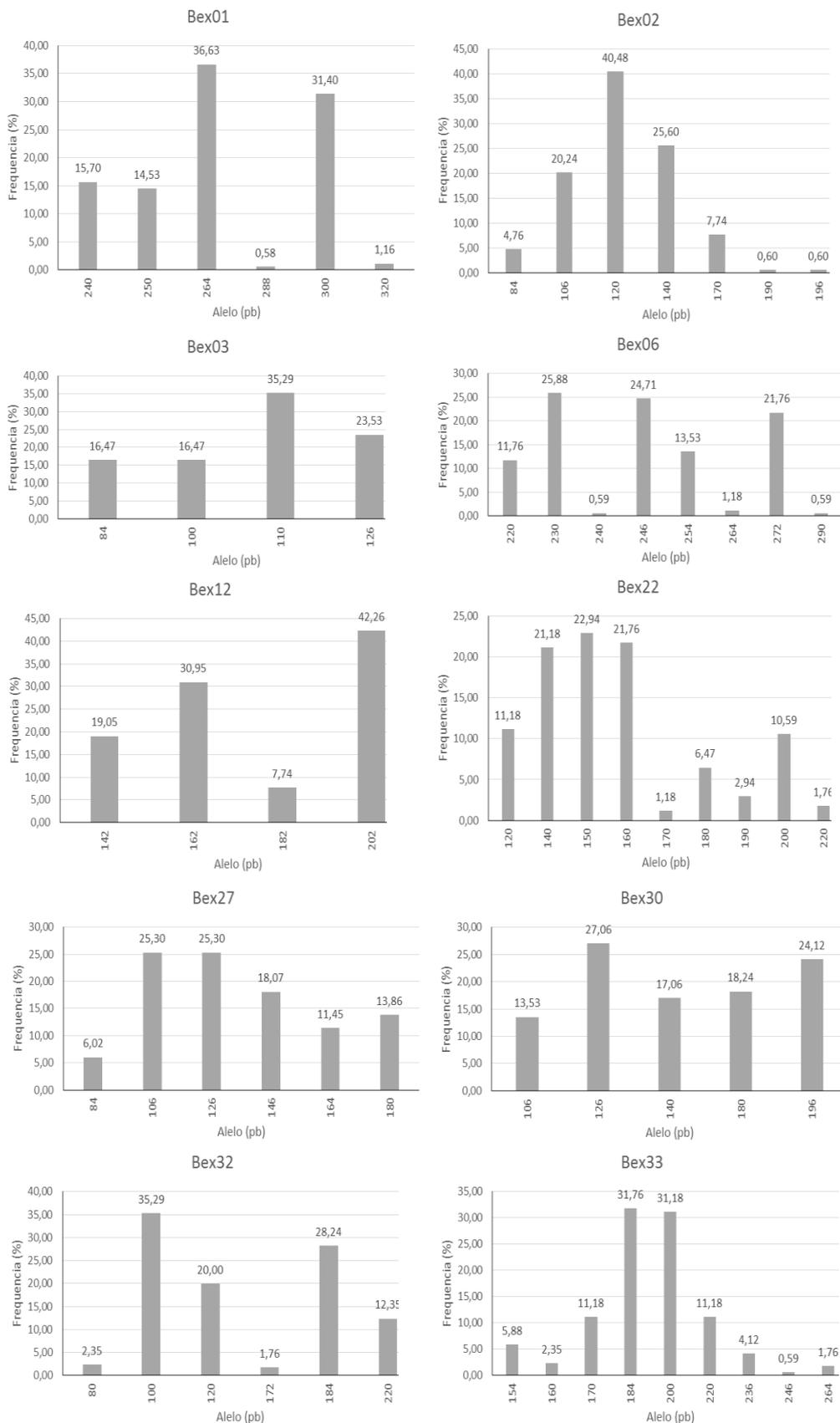
Reis et al. (2009) relatou que em oito marcadores (Bex02, Bex03, Bex12, Bex27, Bex30, Bex32, Bex33 e Bex37) a heterozigidade observada foi inferior à esperada e que o marcador que apresentou a maior heterozigidade esperada também foi o Bex06 (0,950).

**Tabela 02:** Número de alelos (*Na*), Diversidade Gênica (*Dg*), Heterozigidade esperada (*He*), Heterozigidade observada (*Ho*) e *PIC* para os 11 *primers* SSR, com base na amplificação de 86 indivíduos de *B. excelsa* das duas populações amostradas no município de Alta Floresta, MT

<i>Primer</i>	<i>Na</i>	<i>Dg</i>	<i>HE</i>	<i>HO</i>	<i>PIC</i>
Bex01	6	0,7213	0,895	0,5581	0,6725
Bex02	7	0,7214	0,794	0,2738	0,6766
Bex03	5	0,7590	0,806	0,6353	0,7211
Bex06	8	0,7922	0,905	0,6824	0,7601
Bex12	5	0,6833	0,838	0,1667	0,6255
Bex22	8	0,8260	0,777	0,4471	0,8030
Bex27	6	0,8034	0,883	0,5422	0,7745
Bex30	5	0,7880	0,812	0,3412	0,7540
Bex32	6	0,7396	0,663	0,3176	0,6955
Bex33	9	0,7709	0,913	0,4706	0,7383
Bex37	5	0,7753	0,791	0,2907	0,7380
Média	6,36	0,7618	0,8252	0,4296	0,7235

A frequência dos alelos por *primer* (Figura 05) demonstrou que os *primers* Bex01, Bex02, Bex06, Bex22, Bex32 e Bex33 tiveram distribuição menos uniforme, o que indica maior frequência de poucos alelos. Nos demais *primers* (Bex03, Bex12, Bex27, Bex30 e Bex37) observou-se relativa homogeneidade da frequência. Em

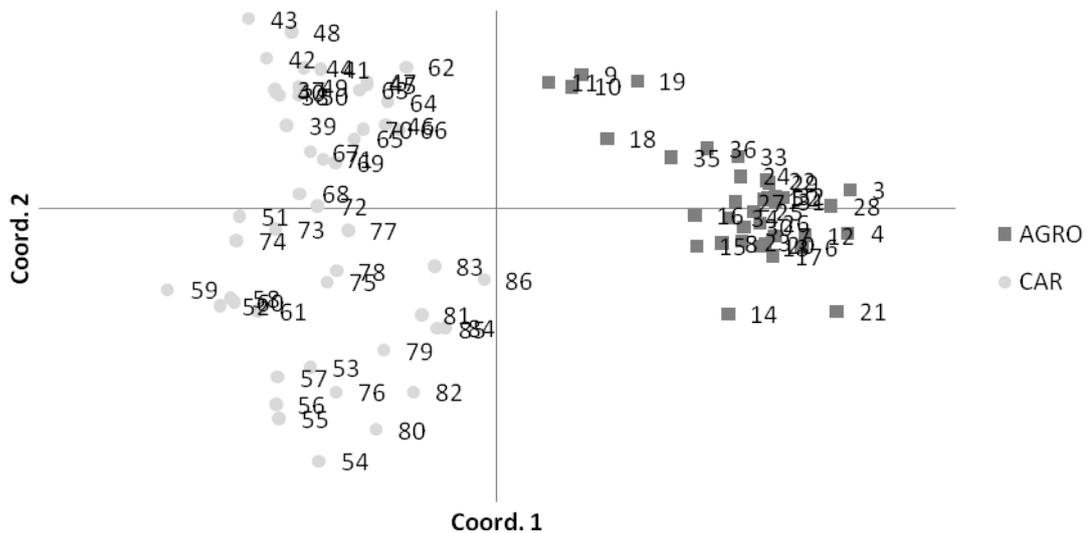
Camu-camu (Rojas et al.,2011) e em eucalipto (Brondani et al.,1998), marcadores com distribuição desuniforme na frequência dos alelos obtiveram menor proximidade entre a heterozigozidade observada e a esperada, assim como no presente estudo, com a exceção do marcador Bex30, o qual mesmo com distribuição uniforme da frequência do alelos, obteve maior diferença entre HO e HE que os demais.



**Figura 05:** Frequências alélicas dos 11 *primers* de microssatélite utilizados nas duas populações de castanheira coletadas no norte do Mato Grosso.

Segundo a análise das coordenadas principais, os primeiros três componentes analisados explicaram 32,02% de variação entre as amostras, com 16,69; 8,91 e 6,42% para o primeiro, segundo e terceiro componentes, respectivamente.

Colombo et al. (2000), ao avaliar 126 genótipos de mandioca, verificaram que os dois primeiros eixos das coordenadas principais foram responsáveis por apenas 14% da variação existente. Chowdhury et al. (2002) constataram que, em 48 cultivares de soja, os dois primeiros componentes principais foram responsáveis por 45,95% da variação total. Sera et al. (2003) avaliaram 14 genótipos elites de café e observaram que as três primeiras coordenadas principais foram responsáveis por 53,8% da variação dos dados. A projeção das coordenadas principais, baseadas na distância genética, (Figura 06) revelou um agrupamento mais compacto dos indivíduos da população AGRO, quando comparado ao agrupamento dos indivíduos da população CAR demonstrando uma maior similaridade entre os indivíduos da população AGRO.



**Figura 06:** Dispersão gráfica a partir da análise das coordenadas principais dos 86 indivíduos de castanheira provenientes das duas populações amostradas em Alta Floresta, MT.

A AMOVA demonstra que a maior parte da variabilidade encontra-se dentro das populações (81%) do que entre as populações (19%) (Tabela 05).

Este mesmo padrão de distribuição da variabilidade foi encontrado em outros estudos com Buriti (Rossi, 2007); Cocco-de-espinho (Oliveira et al. 2008); Guamirim (Brandão, 2008); *Psychotria ipecacuanha* (Rossi et al. 2009) Acariquera (Farias, 2010); Jacarandá (Bertoni et. al, 2010); Castanheira (Muller, 2010; Vieira, 2010); e Cupuí (Rivas et al., 2013). De acordo com Hamrick & Godt, (1990) uma das características observadas em estudos genéticos de populações tropicais é que a maior parte da variação genética é encontrada dentro das populações.

Segundo Loveless & Hamrick (1984), muitas espécies arbóreas possuem efetivos meios de dispersão de genes e, com isto, mantêm altos níveis de variação genética dentro de populações, com pouca diferenciação entre populações, assim como em ambas as populações em estudo.

A castanheira é uma espécie de planta com sistema reprodutivo auto-incompatível (Maués 2002), sendo, portanto, eficientemente polinizada somente se seus polinizadores visitarem outros indivíduos na população (Goulson 1999, Singer & Koehler 2003, Richardson 2004, Tangmitcharoen et al. 2006). Os principais polinizadores de castanheira são abelhas dos gêneros *Xylocopoda* e *Eulaema* (Maués, 2002; Santos & Absy, 2010), as quais podem percorrer distâncias superiores a 20 km (Janzen, 1971).

Apesar deste estudo não abranger os meios de polinização da castanheira, por meio dos resultados de diversidade, pode-se inferir que ocorreu troca gênica entre os indivíduos das populações.

**Tabela 05.** Análise de variância molecular (AMOVA) das duas populações de *B. excelsa* avaliadas a partir de 11 marcadores SSR

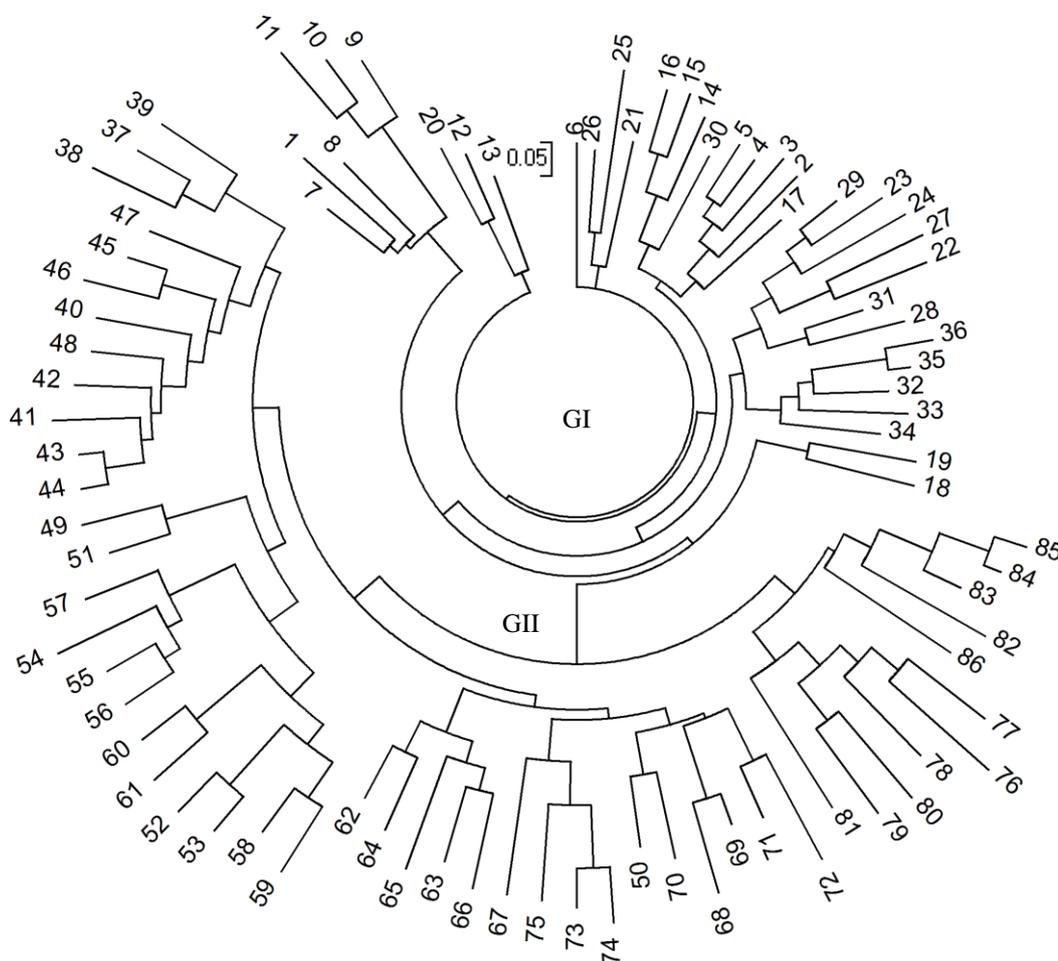
Fonte de Variação	GL	SQ	CV	V T (%)	Valor de p
Entre populações	1	80,648	0,900	19	<0,000
Dentro de populações	85	645,939	3,817	81	
Total	86	726,587	4,717		

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 9999 permutações ao acaso.  $F_{ST} = 0,191$ .

O Dendrograma gerado com todos os indivíduos analisados a partir da distância de Nei (1983) pelo método NJ (Figura 07), possibilitou a formação de dois grupos. O grupo I (GI) foi formado pelos indivíduos da população AGRO (indivíduos de 1-36) e o grupo II (GII) formado pelos indivíduos da população CAR (37-86).

Muller (2010) e Vieira (2010) ao analisarem populações naturais de castanheira, verificaram maior variabilidade entre os indivíduos do que entre as populações (84,67% e 61,36% de variação entre os indivíduos respectivamente), corroborando com o presente estudo (81%).

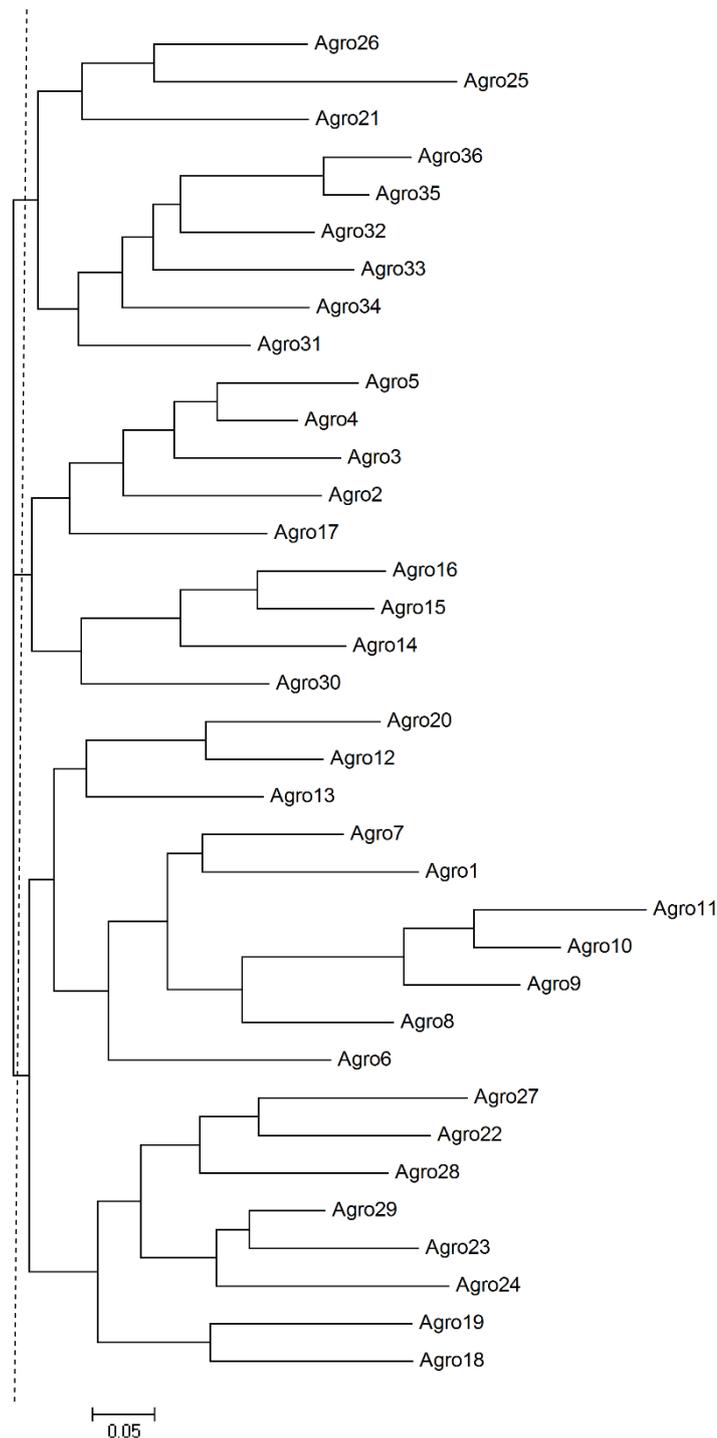
Hamrick et al. (1991), a partir de 449 espécies, concluíram que espécies perenes, com ciclo de vida longo, reprodução sexuada por fecundação cruzada predominante, distribuição geográfica ampla são as que acumulam maior variabilidade genética dentro de suas populações, com menor diferenciação entre populações, o que corrobora com o encontrado neste estudo para as populações de castanheira.



**Figura 07:** Dendrograma gerado a partir da distância genética de Nei (1983), pelo método NJ dos indivíduos de *B. excelsa* das duas populações amostradas. GI = AGRO e GII = CAR.

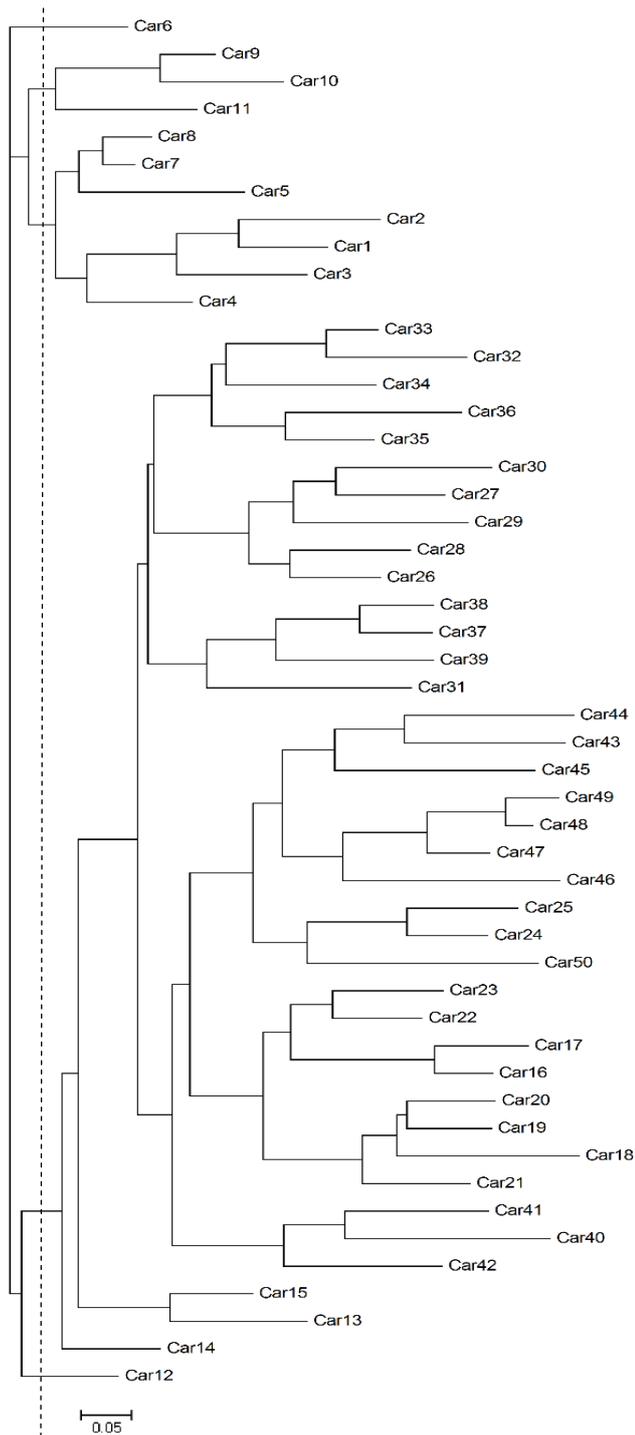
O Dendrograma dos indivíduos da população AGRO, (Figura 08) gerado a partir da distância de Nei (1983) pelo método NJ possibilitou a formação de três grupos: o Grupo I e o Grupo II foram formados por nove indivíduos e o Grupo III por 28 indivíduos. O genótipo 17 foi o mais dissimilar e os genótipos 10 e 11 os mais similares.

Tanto para a população AGRO, quanto para a população CAR, não houveram genótipos totalmente similares.



**Figura 08:** Dendrograma gerado a partir da distância genética de Nei (1983), pelo método NJ dos 36 indivíduos de *B. excelsa* amostrados na população AGRO.

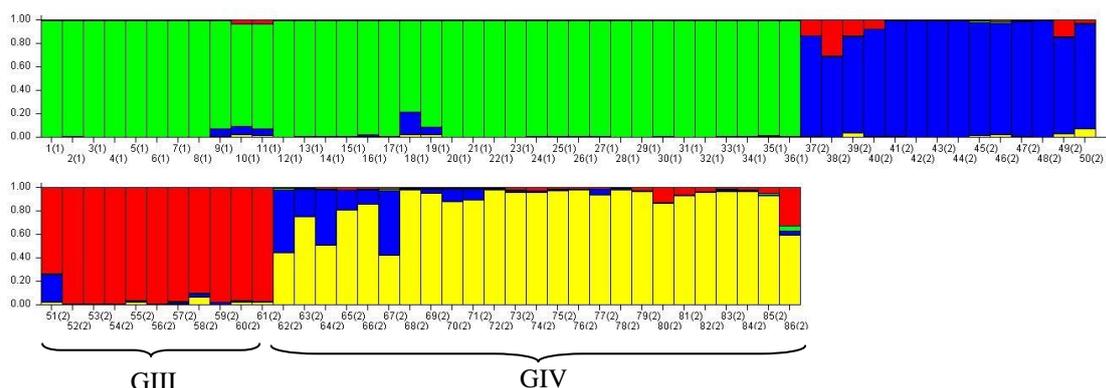
A partir do dendrograma (Figura 09) dos indivíduos da população CAR, gerado pela distância de Nei (1983) pelo método NJ possibilitou a divisão dos genótipos em cinco grupos: o Grupo I e Grupo V foram formados por um indivíduo, o Grupo II por três, o Grupo III por sete, o Grupo IV por 38. Os genótipos mais dissimilares foram o 6 e 12 e os mais similares o 48 e 49.



**Figura 09:** Dendrograma gerado a partir da distância genética de Nei (1983), pelo método NJ dos 36 indivíduos de *B. excelsa* amostrados na população CAR.

O programa “Structure” (Pritchard et al. 2000), baseado em estatística bayesiana foi utilizado para inferir o número de grupos (k). Segundo Pritchard & Wen (2004) nesse programa, o número de grupos formados pode ser pré-determinado, mas são os dados que definem o K (número de grupos), cujo valor mais confiável é estimado pelo menor número com valor negativo de Ln e pelo menor desvio padrão





**Figura 11:** Representação da distribuição dos 86 indivíduos de *B. excelsa* em grupos segundo dados moleculares de 11 *primers* SSR, utilizando o programa “Structure”. Os indivíduos estão representados por barras verticais com colorações de acordo com o grupo ao qual pertencem (quatro grupos, K = 4).

## CONCLUSÕES

A diversidade genética é maior em nível intrapopulacional do que interpopulacional.

Os genótipos de cada população ficaram agrupados dentro de sua população de origem, revelando uma estrutura geográfica.

Todos os *primers* utilizados no estudo apresentaram polimorfismo. O maior número de alelos foi identificado pelos *primers* Bex22 e Bex33 (9 alelos). A qualidade dos marcadores foi confirmada pelo conteúdo de informação polimórfica, média de 0,7235.

O indivíduo mais dissimilar na população AGRO foi o 17, e os mais similares foram os genótipos 10 e 11. Para a população CAR, os indivíduos mais similares foram os genótipos 6 e 12 e os mais similares os 48 e 49.

Por existir variabilidade genética em ambas as populações, e não haver indivíduos geneticamente idênticos ou muito próximos, ambas as populações podem ser fonte de genótipos para bancos de germoplasma e para um futuro programa de melhoramento.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, F.J., MILLS, J.P., DELGADO, J., AGUILAR, M.A., NEGREIROS, J.G., PÉREZ, J.L., Modelling vertical error in LiDAR-derived digital elevation models. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, 65: 103-110, 2010.
- ARBELÁEZ-CORTES, E.; CASTILLO-CÁRDENAS, M. F.; TORO-PEREA N. & CÁRDENAS-HENAO H. Genetic structure of the red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) on the Colombian Pacific detected by microsatellite molecular markers. **Hydrobiologia** 583: 321-330, 2007.
- ARRIEL, N.H.C.; DI MAURO, A.O.; DI MAURO, S.M.Z.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41: 801-809, 2006.
- BERG, E. E., AND J. L. HAMRICK. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal of Forest Research** 27: 415–424, 1997.
- BERTONI, B. W.; TELLES, M. P. DE C.; MALOSSO, M. G.; TORRES, S. C. Z.; PEREIRA, J. O.; LOURENÇO, M. V.; FRANÇA, S. DE C.; PEREIRA, A. M. S. Genetic diversity in natural populations of *Jacaranda decurrens* Cham. determined using RAPD and AFLP markers. **Genetics and Molecular Biology**, 33: 532-538, 2010.
- BLOUIN, M. S.; PARSONS, M.; LACAILLE, V.; LOTZ, S, Use of microsatellites to classify individuals by relatedness. **Molecular Ecology** 5: 393-401, 1996.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, H. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, 32: 314-331, 1980.
- BRANDÃO, M. M. **Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais do Sul de Minas Gerais**. Lavras. Universidade Federal de Lavras. 2008. 80p. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal).
- BRONDANI, R. P. V.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, 97:816-827, 1998.

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

CHOWDHURY, A.K.; SRINIVES, P.; TONGPAMNAK, P.; SAKSOONG, P.; CHATWACHIRAWONG, P. Genetic relationship among exotic soybean introductions in Thailand: consequence for varietal registration. **Science Asia**, 28: 227-239, 2002.

COLOMBO, C.; GÉRARD, S.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germplasm based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, 28: 189-199, 2000.

CUNHA, E. S. M. e DANTAS, F. L. C. G. **O que você precisa saber sobre a castanha- do-brasil: de informações técnicas a curiosidades**. Secretaria de Estado de Meio Ambiente, Ciência e Tecnologia (Sema), Macapá, 1997. 43p.

DOYLE, J. J; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, 19: 11–15, 1987.

ESTOPA, R. A. **Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) Mac Leish)**. Lavras. Universidade Federal de Lavras. 2003. 43p. (Monografia, curso de Ciências Florestais).

EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, 14: 2611–2620. 2005.

FARIAS, G. S. **Estrutura genética de populações e filogeografia da acariquara (*Minquartia guianensis* Aubl., Olacaceae)**. Manaus. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2010. 84p. (Dissertação de Mestrado em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva).

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA, CENARGEN, 1998. 220p.

FERREIRA, R. J. Descomplicando a variabilidade genética – uma proposta de atividade interativa para o ensino de genética. **Genética na Escola, Brasil**, 3: 8-10, 2008.

FREELAND, J. R. **Molecular Ecology**. John Wiley & Sons Ltd., 2005. 403p.

GAIANO, A.P.S.C.; SILVA, A.M.; MORAES, M.A.; ALVES, P.F.; MORAES, M.L.T.; FREITAS, M.L.M.; 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**, Dordrecht, 11: 1631-1643, 2010.

GelQuant Pro. **DNR Bio-Imaging Systems**, 2006. Disponível em: <http://www.dnr-is.com/Product.asp?Par=3.19&id=81>. Acesso em: 30, novembro, 2013.

GOOGLE (Brasil). Programa Google Earth (Org.). **Programa Google Earth**. 2013. Disponível em: <<https://maps.google.com.br/>>. Acesso em: 25, novembro, 2013.

GOULSON, D. Foraging strategies of insects for gathering nectar and pollen, and implications for plant ecology and evolution. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 2**: 185-209, 1999.

HAMRICK, J. L.; M. J. GODT. Allozyme diversity in plant species. *In* A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler, and B. S. Weir [eds.], **Plant Population Genetics, Breeding, And Genetic Resources**, 24: 43–63, 1990.

HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. *J. Tropical Ecology*. 7: 395-399, 1991.

HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. *In* Genetics and conservation (C.M. Schone-Wald-Cox, S.H. Chambers, B. MacByde & L. Thomas, eds.). **Benjamin Cummings Publishing Company**, Menlo Park, 15: 335-348, 1983.

HANCOCK J. M. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. *En: Microsatellites: Evolution and Applications*. 14: 1-9, 1999.

ISAGI, Y., KANAZASHI, T., SUZUKI, W., TANAKA, H., Abe, T. Pollination patterns in *Magnolia obovata* revealed by microsatellite paternity analysis. *Int. J. Plant Sci.* 165:1047–1053, 2004.

JANZEN, D.H. Seed predation by animals. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 2: 465–492, 1971.

KAGEYAMA, P.Y., SEBBENN, A.M., RIBAS, L.A., GANDARA, F.B. CASTELLEN, M., PERECIM, M.B. & VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis** 64: 93-107, 2003.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, 5: 150-163, 2004.

- LEBERG PL. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. **Molecular Ecology**;11: 2445-2449, 2002.
- LIU K.,MUSE S. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics** 21: 2128–2129, 2005.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics** 15: 65–95, 1984.
- MAUÉS, M.M. **Estratégias reprodutivas de espécies arbóreas e a sua importância para o manejo e conservação florestal: Floresta Nacional do Tapajós (Belterra-PA)**. Brasília. Universidade de Brasília. 2006. 206p. (Tese de Doutorado em Ecologia).
- MEFFE, G. K.; C. R. CARROLL. **Principles of conservation biology**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 1994. 601p.
- MÜLLER, K. É.. **Diversidade Genética De Populações Naturais De *Bertholletia excelsa* Humb. & B. (Lecythidaceae) Por Meio De Marcadores ISSR**. Alta Floresta. Universidade do Estado de Mato Grosso. 2010. 47p. (Monografia, curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas).
- NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. **Journal of Molecular Evolution**, New York, 19: 153-170, 1983.
- OLIVEIRA, A. D.; BARBOSA DE PAULA, M. F.; PIMENTA, M. S. A; BRAGA, R. F.; FERREIRA, M. F. M.; RODRIGUES,L. A. Variabilidade genética de populações de fava d'anta (*Dimorphandra mollis*) da região norte do Estado de Minas Gerais. **Revista Árvore**, 32: 355-363, 2008.
- PEAKALL, R.; SMOUSE P.E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics** 28: 2537-2539, 2012.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology** Notes, 6: 288-295, 2006.
- PREFEITURA MUNICIPAL DE ALTA FLORESTA. **Estado de Mato Grosso**. 2013. Disponível em: <http://www.altafloresta.mt.gov.br/geografia/> Acesso em: 20, dezembro, 2013.
- PRITCHARD, J.K. & WEN W. **Documentation for structure software: Version 2.1**. Disponível em: <http://pritch.bsd.uchicago.edu.>, 2004. Acesso em: 21, agosto, 2013.

PRITCHARD, J; STEPHENS, M; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics** 155: 945–959, 2000.

QUESADA, M.; STONER, K.E.; ROSAS-GUERRERO, V.; PALÁCIOS-GUEVARA, C. & LOBO, J.A. Effects of habitat disruption on the activities of nectarivorous bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in a dry tropical forest: implications for the reproductive success of the Neotropical tree *Ceiba grandiflora*. **Oecologia**, 135: 400-406, 2003.

RAFALSKI, J.A.; VOGEL, J.M.; MORGANTE, M.; POWELL, W.; ANDRE, C. & TINGEY, S.V. Generating and using DNA markers in plants. In: Non Mammalian Genomic Analysis: a Practical Guide (eds Birren B, Lai E), **Academic Press**, New York, 12: 75–134, 1996.

REIS, M.M., A.C. BRAGA. M.R. LEMES, R. GRIBEL, AND R.G. COLLEVATTI. Development and characterization of microsatellite markers for the Brazil nut tree *Bertholletia excelsa* Humb. & B. Lecythidaceae). **Molecular Ecology Resources** 9: 920-923, 2009.

RICHARDISON, S. C. Are nectar-robbers mutualists or antagonists? **Oecologia** 139: 246-254, 2004.

RIVAS, L. H.; GIUSTINA, L. D.; LUZ, L. N.; KARSBURG, I. V. PEREIRA, T. N. S.; ROSSI, A. A. B. Genetic diversity in natural populations of *Theobroma subincanum* Mart. in the Brazilian Amazon. **Genetics and Molecular Research**. 12: 4998-5006, 2013.

ROJAS, S.; CH., YUYAMA K. C.; NAGAO, E. O.. Diversidade genética em acessos do banco de germoplasma de camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVaugh) do INPA usando marcadores microssatélites (EST-SSR). **Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, 12: 51-64, 2011.

ROSSI, A. A. B.; OLIVEIRA, L. O.; VENTURINI, B. A.; SILVA, R. S. Genetic diversity and geographic differentiation of disjunct Atlantic and Amazonian populations of *Psychotria ipecacuanha* (Rubiaceae). **Genetics**, Springer Netherlands 136: 57–67, 2009.

ROSSI, F. S. **Avaliação da diversidade genética entre e dentro populações naturais de *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) no município de Alta Floresta-MT, com marcadores de ISSR**. Alta Floresta. Universidade do Estado de Mato Grosso. 2007. 40p. (Monografia, curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas).

- SAHYUN, S. A. **Variabilidade genética de populações de espinheira santa (*Maytenus aquifolium*) por marcadores moleculares.** Londrina. Universidade Estadual de Londrina. 2007. 89p. (Dissertação de Mestrado em Genética).
- SANTOS, C. F.; ABSY, M. L. Polinizadores de *Bertholletia excelsa* (Lecythidales: Lecythidaceae): Interações com Abelhas sem Ferrão (Apidae: Meliponini) e Nicho Trófico. **Neotropical Entomology**, Manaus, 39: 854-861, 2010.
- SCHLÖTTERER, C.; PEMBERTON, J. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations - a critical review. In: DeSalle R and Schierwater B (eds) **Molecular Approaches to Ecology and Evolution**. 12: 71-86, 1998.
- SEBBENN, A.M.; CARVALHO, A.C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, S.M.B.; GAINO, A.P.S. C.; DA SILVA, J.M.; JOLIVET, C.; MORAES, M.L.T. Low levels of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity. Edinburgh. Print**, 106: 134-145, 2010.
- SELKOE K. A.; TOONEN R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology** 9: 615-629, 2006.
- SERA, T.; RUAS, P.M.; RUAS, C. de F.; DINIZ, L.E.C.; CARVALHO, V. de P.; RAMPIM, L.; RUAS, E.A.; SILVEIRA, S.R. da. Genetic polymorphism among 14 elite *Coffea arabica* L. cultivars using RAPD markers associated with restriction digestion. **Genetics and Molecular Biology**, 26: 59-64, 2003.
- SINGER, R. B.; KOEHLER, S. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): Do pollinators necessarily promote cross pollination? **Journal of Plant Sciences**, 116: 19-25, 2003.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 4th edition. W. H. Freeman and Co.: New York. 2012. 937 pp.
- TANGMITCHAROEN, S.; TAKASO, T.; SIRIPATANADILOX, S.; TASEN, W.; OWENS, J. N. Behavior of major insect pollinators of teak (*Tectona grandis* L. f.): a comparison of clonal seed orchard versus wild trees. **Forest Ecology and Management**, 222: 67-74, 2006.
- VIEIRA, F. S. **Diversidade genética entre e dentro de três populações naturais de *Bertholletia excelsa* H.B.K da região norte de Mato Grosso e suas implicações para a conservação da espécie.** Alta Floresta. Instituto Superior de Pesquisa e Pós-graduação. 2010. 14p. (Monografia, curso de Gestão e Planejamento Ambiental).

WRIGHT, S. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138. - 1943b An analysis of local variability of flower color in *Limnthus parryae*. **Genetics** 28: 139-156, 1943.

YANAKA, F. Y. et al. Variabilidade genética em populações naturais de *Bromus auleticus* Tris. ex Ness (Poaceae) com base em isoenzimas e marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34: 1897-1904, 2005.

**CAPÍTULO II: Estrutura Populacional e Distribuição Espacial de *Bertholletia*  
*exce/sa* B. no Parque Nacional do Juruena, Amazônia Meridional**

## RESUMO

Vieira, Felipe Sakamoto; M. Sc.; Universidade do Estado de Mato Grosso; Fevereiro de 2014. Estrutura Populacional e Distribuição Espacial de *Bertholletia excelsa* B. no Parque Nacional do Juruena, Amazônia Meridional. Orientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi. Conselheiras: Leonarda Grillo Neves e Rosana Rodrigues.

Após a decadência do ciclo econômico da borracha, a castanheira constituiu-se o principal produto extrativo. A crescente destruição da floresta Amazônica influi negativamente na ecologia da castanheira. Padrões de distribuição espacial é uma ferramenta muito utilizada para entender o comportamento ecológico da espécie. Foram demarcadas duas áreas no Parque Nacional do Juruena, nas quais continham um módulo do PPBio em cada, e nelas amostradas todas as castanheiras com DAP > 10 cm. Os indivíduos amostrados foram divididos em cinco classes: jovens; adultos jovens; adultos produtivos; adultos maduros; e adultos idosos. Na área I, 1200 ha, foram amostrados 143 indivíduos, e na área II, 500 ha, 18 árvores. A densidade foi de 0,119 e 0,032 indivíduos ha<sup>-1</sup> para a área I e área II respectivamente. 82,52% dos indivíduos da área I estão na classe adultos produtivos e 72,22% estão nesta mesma classe na área II. As árvores amostradas na área I possuem idade média de 255 anos, e na área II de 208. O índice de Morisita, para a área I e área II foi de 4,133 e 7,320 respectivamente. A distribuição espacial das castanheiras amostradas em ambas as áreas foi agregada. A área I possui maior densidade, alta concentração de árvores em período produtivo e maior média de idade do que a área II.

**Palavras-chave:** Castanheira, PNJu, DAP.

## ABSTRACT

Vieira, Felipe Sakamoto; M.Sc.; Mato Grosso State University; February 2014; Population structure and spatial distribution of *Bertholletia excelsa* B. in the Juruena National Park, southern amazon. Adviser: Ana Aparecida Bandini Rossi. Counselors: Leonarda Grillo Neves e Rosana Rodrigues.

After the rubber economic cycle falling, Brazil nut tree was the principal extractivism product. The increasing loss of Amazon rain forest has a negative impact on the Brazil nut tree ecology. Spatial distribution patterns are widely used as a tool to understand the species ecology behavior. It was delimited two areas in Juruena National Park, each containing a module of PPBio, and them sampled all Brazil nut trees with DAP>10cm. The samples were organized in five classes: young, young adults, productive adults, mature adults and old adults. In area I (1200 ha) it was sampled 143 individuals, and in area II (500 ha), 18. The density found was 0,119 and 0,032 individual ha<sup>-1</sup> for the area I and area II respectively. The productive adults in area I composed 82,52% of individuals and 72,22% in area II. The sampled trees in area I had average age of 255 years, and in area II of 208. The Morisita Index for area I and II was 4,133 and 7,320 respectively. The spatial distribution of the Brazil nut trees sampled was aggregate in both areas. The area I had more density, higher concentration of tree in productive period and higher average age than area II.

**Key words:** Brazil nut tree, PNJu, DAP.

## INTRODUÇÃO

A Amazônia Continental, localizada ao norte da América do Sul, ocupando uma área total de mais de 6,5 milhões de km<sup>2</sup>, abrange nove países: Brasil, Venezuela, Colômbia, Peru, Bolívia, Equador, Suriname, Guiana e Guiana Francesa (Brasil, 2005). A floresta Amazônica tem um terço da biodiversidade global, diversidade que engloba várias espécies de vertebrados, invertebrados e flora de múltiplos grupos taxonômicos. Estima-se que só a comunidade de plantas vasculares tenha cerca de quarenta mil espécies, das quais trinta mil são endêmicas (Mittermeier et al., 2003).

A castanheira (*Bertholletia excelsa* B.), pertencente à família Lecythidaceae, é considerada uma das plantas de maior valor da Floresta Amazônica (Cunha & Dantas, 1997).

*B. excelsa* é uma planta semidecídua, heliófila, desenvolve-se bem em regiões de clima quente e úmido sendo mais frequente em regiões com clima tropical chuvoso com a ocorrência de períodos de estiagem definidos (Lorenzi, 2000; Santos et al., 2006). A espécie ocorre na Venezuela, Colômbia, Peru, Bolívia e Guianas, mas no Brasil existe em maior número e formações compactas, nos estados do Pará, Amazonas, Acre, Maranhão, Mato Grosso, Rondônia, Amapá e Roraima (Lorenzi, 2000; Pinheiro, 2004).

Após a decadência do ciclo econômico da borracha (*Hevea brasiliensis*), a castanheira constituiu-se no principal produto extrativo; entretanto, o desmatamento para atender ao avanço da agropecuária tem causado grande impacto nas formações nativas da espécie, com perdas de material genético, exploração direta da madeira e ameaça de extinção (Silva et al., 2009).

A crescente destruição da floresta Amazônica, desde 1991, influi negativamente na ecologia de *B. excelsa*, pois afeta diversos fatores, como: reprodução, dispersão de sementes, proteção contra eventos naturais, entre outros (Fearnside, 2006).

Essa distribuição é resultante de vários fatores que interagem entre si. Fatores abióticos como o tipo de solo, estresse hídrico, altitude, intensidade luminosa e fatores bióticos como polinizadores, dispersores, predadores e espécies competidoras são algumas das variáveis capazes de afetar o padrão de distribuição espacial de uma espécie (Peters, 1994; Budke et al., 2004). Assim, as variáveis

ambientais dimensionam o padrão espacial, que pode ser (1) agrupado, quando os indivíduos estão próximos uns dos outros; (2) aleatório, com indivíduos distribuídos ao acaso; ou (3) regular, quando há intervalos regulares entre os indivíduos (Krebs, 1999).

Segundo Anjos (2004), o estudo de padrões de distribuição espacial é uma ferramenta muito utilizada para entender o comportamento ecológico da espécie, fornecendo informações que subsidiam estratégias de manejo e influenciam na estrutura populacional.

O objetivo do presente estudo foi analisar a estrutura populacional e a distribuição espacial em populações de *B. excelsa* em uma área da Amazônia Meridional, localizada no Parque Nacional do Juruena – MT.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Caracterização da área de Estudo**

O estudo foi realizado no Parque Nacional do Juruena (PNJu), no estado de MT. O PNJu é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral, administrada pelo ICMBio, com uma área de 195.752.671 ha, localizados nos estados de Mato Grosso (60%) e Amazonas (40%) (Decreto Federal S/N de 5 de Junho de 2006).

O PNJu possui temperatura média anual de 26°C, precipitação anual de 2000 mm a 2500 mm; quanto à geologia, há 90% de predominância de rochas sedimentares clásticas. Os principais tipos de solos são: Latossolos (50%) e Argissolos (23%) (Brasil, 2011).

Possui como vegetação predominante a Floresta Ombrófila Densa - Floresta Ombrófila Aberta 44,15%, (Brasil, 2011).

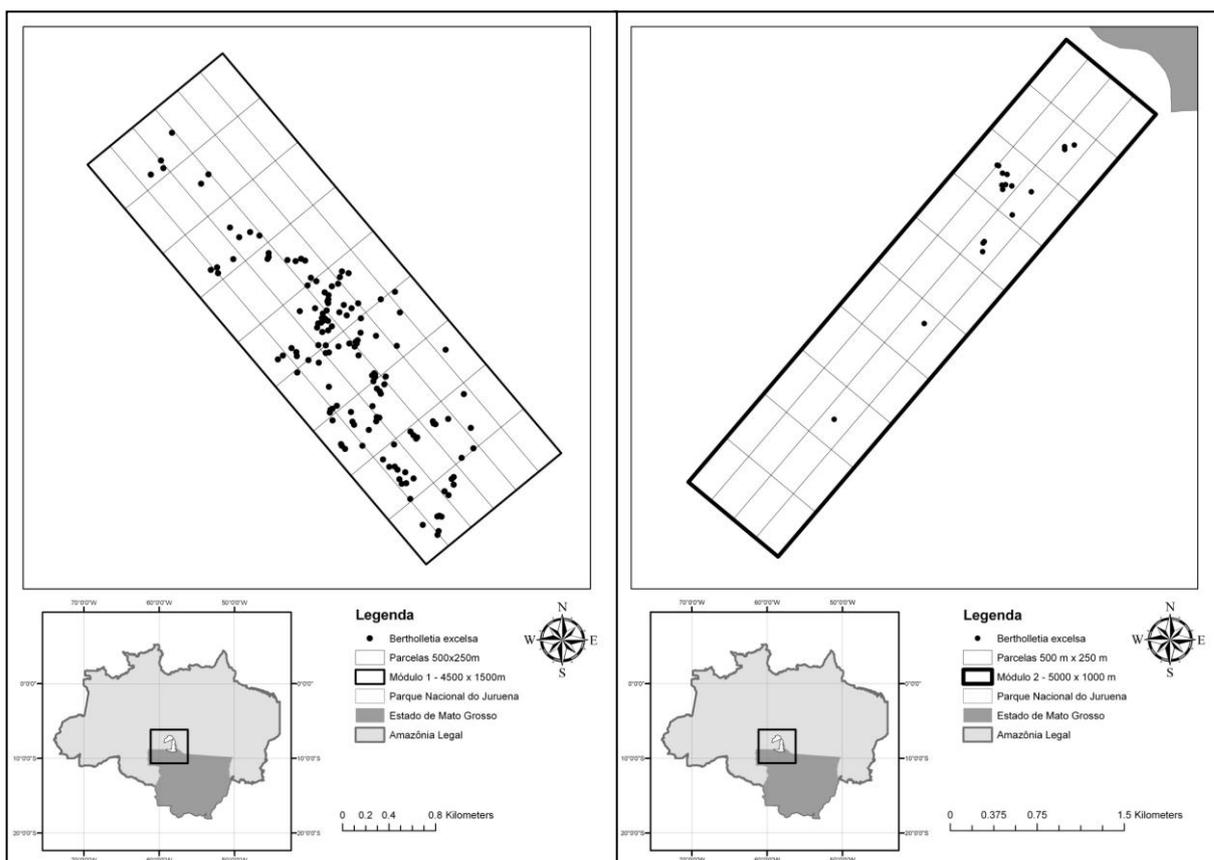
O Parque Nacional do Juruena representa a mais extensa área protegida nesta faixa “megaecotonal”. Além de garantir a funcionalidade ecossistêmica e os serviços ambientais de uma região importante da Amazônia Meridional, contribui como uma barreira ao avanço do Arco do Desmatamento (Brasil, 2011).

### **Procedimentos em campo**

Foram demarcadas duas áreas no Parque Nacional do Juruena (PNJu), na parte pertencente ao município de Apiacás, MT, as quais continham um módulo do

PPBio (Programa de Pesquisa em Biodiversidade) em cada. A área I possui 1500 ha, enquanto que a área II 1200 ha.

A delimitação das áreas de estudo (Figura 01) ocorreu a partir de uma picada de 6 km de extensão para a área I e 5 km para a área II. Pelo método de varredura, foram amostrados todos os indivíduos de *B. excelsa* que ocorreram à esquerda e à direita da picada (2 km na área I e 1 km na área II). À esquerda da picada encontram-se as parcelas delimitadas pelo PPBio.



**Figura 01:** Localização geográfica do Parque Nacional do Juruena, MT e das unidades amostrais.

Todos os indivíduos de *B. excelsa* com DAP > 10 cm que ocorreram dentro das áreas de estudo foram georreferenciadas com Gps Garmin Etrex®, para cada espécime foi estimada a altura e DAP(diâmetro a altura do peito). A cor do cerne (branco, cor-de-rosa ou vermelho), tipo de copa (aberta ou guarda-chuva) e presença de frutos foram também avaliados.

## Análise dos dados

Os indivíduos mapeados foram categorizados em cinco classes, conforme Zuidema & Boot(2002): jovens (DAP= 10-40 cm); adultos jovens (DAP=41-80 cm); adultos produtivos (DAP=81–160 cm); adultos maduros (DAP=161–200 cm); e adultos idosos (DAP >200cm).

O número total de indivíduos amostrados em cada área foi dividido pelo tamanho da respectiva unidade amostral para a obtenção da densidade (ind. ha<sup>-1</sup>), que foi comparada com resultados de outros estudos realizados na Amazônia.

Para o cálculo da idade, utilizou-se a equação proposta por Camargo et. al (1995).

$$\text{Idade} = \text{DAP}\alpha$$

Onde: DAP=diâmetro a altura do peito

$\alpha$  =é a constante de idade para cada cm, 1,905

Para a determinação da distribuição espacial, ambas as áreas foram subdivididas em parcelas, de 250x500 m, totalizando 54 parcelas na área I e 40 parcelas na área II e então adotado o índice de Morisita (Morisita, 1959; 1962):

$$I_d = \frac{n \cdot (\sum_{i=1}^s X^2 - N)}{N \cdot (N - 1)}$$

Em que: Id: índice de Morisita; n: número total de parcelas amostradas; N: número total de indivíduos por espécies, contidos em n parcelas; X<sup>2</sup>: quadrado do número dos indivíduos por parcela; s: número de espécies amostradas.

A significância dos valores calculados para o índice de Morisita (Id) foi obtida mediante o teste do qui-quadrado e um nível de significância de 0,05 de probabilidade de erro.

$$X^2 = \frac{n \cdot \sum_{i=1}^s X^2}{N} - N$$

Para a distribuição espacial, através do Programa R, foram determinados Mclu e Muni, os limites superiores e inferiores do índice de Morisita para uma distribuição aleatória e o Imst (índice de Morisita Padronizado) (HAIRSTON et al., 1971; KREBS, 1999). Seimor > mclu a espécie tem uma distribuição espacial agregada, se imor < muni, o padrão de distribuição espacial é regular. Se Imst varia

entre -0,5 e 0,5, a distribuição é aleatória, se for inferior a -0,5, a distribuição é regular e sendo superior a 0,5, a distribuição é agregada.

As análises de distribuição espacial foram feitas com auxílio do Programa R.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na área I, foram amostrados 143 indivíduos de *B. excelsa* em 1200 ha, densidade de 0,119 ind. ha<sup>-1</sup>. Enquanto na área II, foram inventariadas 18 árvores, densidade de 0,032 ind. ha<sup>-1</sup> (Tabela 01). Para Scoles & Gribel (2011), a densidade média de castanheiras na Amazônia varia de 1 a 23 indivíduos ha<sup>-1</sup> (Tabela 01). Salomão (2009) ao amostrar castanheiras em dois platôs, descreveu densidade menor que 1 indivíduo ha<sup>-1</sup>, assim como as duas áreas do presente estudo. Pode-se inferir que as características que influenciam a densidade de castanheiras de ambas as áreas (área I e área II) são similares às dos platôs.

Para Galo, 2008, o PNJu é descrito como um mosaico de ambientes abertos que variam e se alternam muito rapidamente, em altitudes de 40 e quase 500m, somado ao fato da *B. excelsa* ser característica de mata alta de terra firme (Lorenzi, 2000; Santos et al., 2006), podem explicar a baixa densidade demonstrada.

**Tabela 01.** Comparação de densidade de *B. excelsa* (DAP > 10 cm) em diferentes regiões da Amazônia, proporcional a área de amostragem

Origem	Área (ha)	Densidade	Fonte
Reserva Florestal El Tigre, Beni, Bolívia	12	1,7	Zuidema & Boot (2002)
Area Indígena de Pinkaiti, Pará, Brasil	28,5	4,8	Peres & Baider (1997)
Floresta de Saracá-Taquera, Pará, Brasil	203,7	5,6	Salomão (2009)
Reserva extrativista Chico Mendes, Acre, Brasil	420	1,35	Wadt et. al (2005)
Parque Nacional do Juruena (Area II), Mato Grosso, Brasil	500	0,032	Presente estudo
Parque Nacional do Juruena (Area I), Mato Grosso, Brasil	1200	0,119	Presente estudo
Platô Bela Cruz, Pará, Brasil	1500	0,023	Salomão (2009)

Em relação ao DAP, tanto a área 01, quanto a área 02 possuem a maior porcentagem de indivíduos (82,52 e 72,22%, respectivamente) distribuídos na classe de adultos produtivos (Figura 02). As médias de DAP por área foram de 134 e 109

cm respectivamente. A área II demonstra um maior percentual de árvores jovens 16,67% e idosas 5,56% em relação à área I. O baixo percentual de indivíduos com DAP<80 cm na área I demonstra baixa capacidade regenerativa populacional.

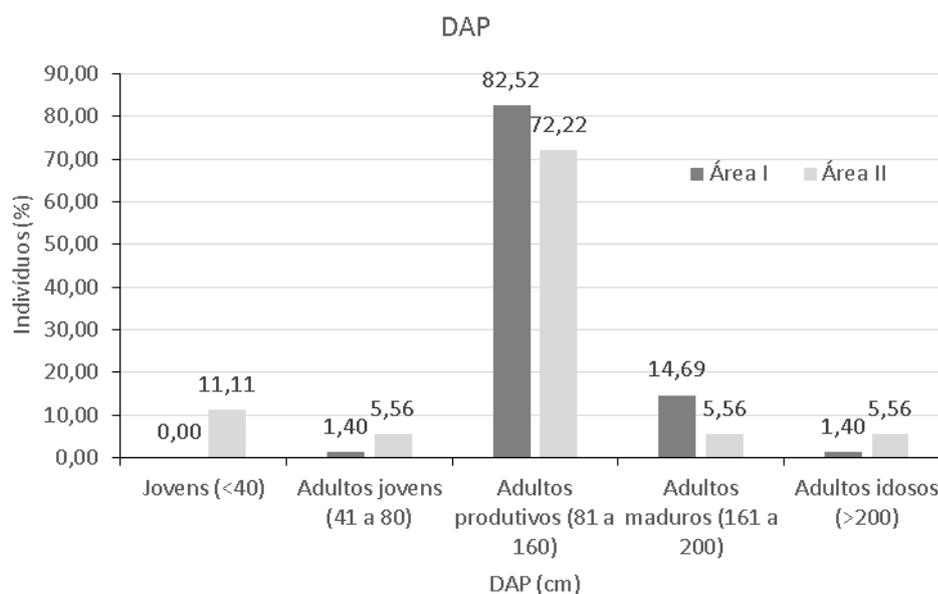
A maior quantidade de indivíduos jovens, (DAP<40 cm), 11,11% na área II em relação à área I (0%), demonstra maior capacidade regenerativa da espécie nesta área de estudo.

Os valores de indivíduos jovens, encontrados neste estudo estão dentro dos observados por Peres et. al (2003) que relataram variância de 50% a 0% de indivíduos jovens em populações naturais extrativistas de *B. excelsa*.

Salomão (2009), relatou baixa ocorrência de indivíduos jovens (1,2%) no platô Almeidas, provavelmente pelas exigências ecológicas da espécie, logo após a germinação, em floresta fechada, a mesma não se desenvolve pela ausência parcial/total de luz. A nulidade de indivíduos jovens na área I, possivelmente, é fruto da formação florestal com dossel denso, na qual indivíduos de baixo porte são raros, não somente da espécie em estudo. A área II apresenta algumas regiões de clareira, o que pode favorecer o desenvolvimento de plântulas de castanheira, logo, esta apresenta mais ocorrência de castanheiras jovens, em relação à área I. A castanheira é dependente de clareiras para o crescimento vertical das plântulas germinadas (Mori & Prance, 1990; Myers et al., 2000).

Ambas as áreas apresentaram grande parte dos indivíduos distribuídos nas classes adultos produtivos e adultos maduros, 97,20% e 77,78% para as áreas I e II respectivamente.

Scoles & Gribel (2011) relataram maior parte dos indivíduos 59% também distribuídos nestas classes de DAP, assim como Wadt et. al (2005), 54%.



**Figura 02.** Distribuição dos indivíduos de *B. excelsa* amostrados no PNJu, julho de 2012, em classes de DAP.

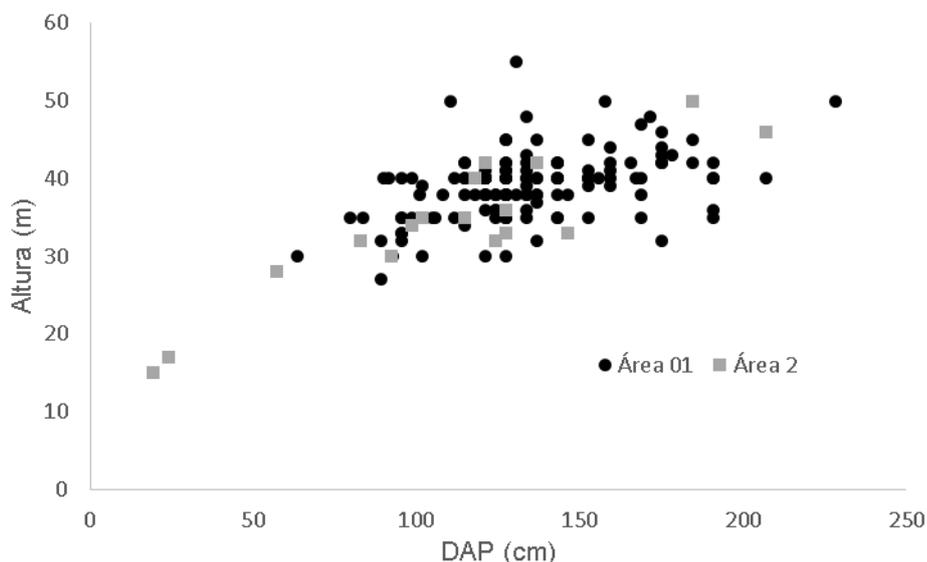
Os valores médios de DAP, 134 cm para área I e 109 cm para área II, corroboram com os descritos por Peres et al. (2003), que encontraram populações de *B. excelsa* na Amazônia com DAP médio superior a 100 cm. Scoles & Gribel (2011) também encontraram valores médios de DAP acima de 100 cm em um castanhal na região do Rio Trombetas, Pará.

Populações de *B. excelsa* com DAP inferiores a 100 cm são comumente relacionadas às regiões com intervenção humana, como na Área Indígena do Pinkaiti (PA), com DAP médio de  $73 \pm 4$  cm, as castanheiras da Reserva Extrativista Chico Mendes (AC), possuem DAP médio de  $86 \pm 5$  cm e no Lago Campana Grande (AM) 73 cm (Peres & Baidar, 1997). Logo, médias superiores às de localidades humanizadas eram esperadas para as populações do PNJu avaliadas neste estudo, visto que o mesmo é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral.

Para altura das castanheiras, a média para a área I foi de 39 metros, com apenas uma ocorrência superior a 50 metros, os indivíduos amostrados na área II possuem altura média de 34 metros com um indivíduo com 50 metros.

Segundo a dispersão hipsométrica (Figura 03), a maioria dos indivíduos, independente da área, se enquadrou na altura de 40 metros com DAP próximo a 150 cm. Proporção similar à encontrada por Salomão (2009) ao analisar 1140 castanheiras no Porto Trombetas (PA). Salomão (1991) descreve que a necessidade

de crescimento em altura cessa a partir da transcendência do dossel da floresta, para então se concentrar no aumento de espessura do tronco. Logo, para as áreas em estudo, pode-se inferir que o dossel florestal é inferior a 30 metros de altura.



**Figura 03.** Distribuição em curva hipsométrica dos indivíduos de *B. excelsa* coletados no PNJu em julho de 2012.

Para Tonini e Arco-Verde (2005), ao trabalharem com a relação altura/diâmetro de castanheira concluíram que esta desenvolve copas grandes e vigorosas, por isso necessita de maior espaço vital e exige maiores espaçamentos iniciais, fato que pode ter acontecido em ambas as áreas de estudo.

A idade média dos indivíduos da área I foi de 255 anos, sendo o mais velho com cerca de 435 anos e o mais jovem com aproximadamente 121 anos, enquanto para a área II, a média foi de 208 anos, com idade máxima de 394 anos e mínima de 36 anos.

Salomão (2009), afirma que geralmente aceita-se que as árvores da floresta tropical tenham baixa longevidade, raramente ultrapassando 400 anos, apesar disso, Peres et.al (2003) relatam que em casos extremos, castanheiras muito velhas provavelmente possam sobreviver por mais de 800 anos, a idade dos indivíduos amostrados estão dentro do estipulado por Salomão (2009), com apenas uma ocorrência acima de 400 anos.

Em relação à cor do cerne e tipo de copa, todas as árvores amostradas possuem cerne branco e copa no formato aberta.

Braga (2007), ao observar produção de frutos de 334 castanheiras no sudoeste do estado do Acre, encontrou 118 indivíduos (34%) com cor de cerne branco, mas sem padrão de distribuição separado entre indivíduos com cerne vermelho e branco. Não foi possível relacionar a cor do cerne com a distribuição dos indivíduos, visto que apenas árvores com cerne branco foram amostradas.

Na área I, todas as castanheiras apresentavam frutos em suas copas. As duas árvores mais jovens (36 e 45 anos respectivamente) foram as únicas ocorrências sem frutos na área II.

Para Peña-Claros et al (2002), árvores da Amazônia boliviana com idades a partir de 100 anos têm 50% de chances de se tornarem produtivas quando em condições naturais, essa afirmativa confirma as duas únicas árvores sem produção amostradas.

Diversos outros fatores são associados à produção de frutos (Viana et al., 1998; Zuidema e Boot, 2002; Wadt et al., 2005 e Kainer et al., 2006) como: tamanho da árvore; atributos da copa, como posição sociológica e infestação por cipós; variações temporais inerentes à própria planta; fatores climáticos, como a precipitação; nutrição, além de fatores genéticos e interações com polinizadores, predadores e dispersores.

A distribuição espacial das castanheiras em ambas as áreas foi agregada (Tabela 02), pois os valores de Imor foram superiores aos de Mclu. A área I apresentou índice de Morisita de 4,133, e índice de Morisita Padronizado de 0,539, enquanto que a área II obteve 7,320 e 0,569 respectivamente.

**Tabela 02:** Tipo de distribuição espacial, índice de Morisita (Imor), valor mínimo para distribuição aleatória (Mclu), valor mínimo para distribuição regular (Muni), índice de Morisita Regular e valor de  $\chi^2$

Local	Distribuição	Imor	Mclu	Muni	Imst	$\chi^2$
Área I	Agregada	4,133	1,135	0,819	0,539	4,191
Área II	Agregada	7,320	2,125	0,973	0,569	2,382

Este tipo de distribuição está de acordo com a observada por Araújo et al. (2001), que descreveram um padrão de distribuição agrupado para castanheiras em 158 unidades amostrais distribuídas de forma sistemática na Floresta Nacional de Carajás (PA). Já Tonini et al. (2008) ao amostrar duas parcelas de 9 ha cada em Roraima, descreveram que apenas os indivíduos jovens possuem distribuição agrupada, enquanto que para os adultos, a distribuição é regular.

A distribuição espacial agrupada é explicada pelas diferenças nos tipos florestais nos quais a castanheira ocorre naturalmente (Wadt et al., 2005). Logo, ambas as áreas em estudo favorecem a distribuição espacial agrupada.

## CONCLUSÕES

De acordo com os valores de densidade, número de indivíduos produtivos e idade das castanheiras e, ainda a presença ou não de indivíduos jovens nas áreas estudadas, a área I apresenta baixa capacidade de regeneração da população em detrimento da área II. Entretanto, atribui-se a essa baixa capacidade à fitofisionomia da vegetação da área estudada, a qual é composta por indivíduos mais próximos, com dossel fechado, o que lhe confere ausência de claros (presença de luminosidade), necessária ao estabelecimento dos indivíduos jovens de castanheiras como discutido nesse estudo, sendo corroborado com os resultados apresentados para a área II, que possui menor densidade, menor concentração de árvores em período produtivo e menor média de idade, e a presença de indivíduos jovens e de clareiras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANJOS, A. dos; MAZZA, M. C. M.; SANTOS, A. C. M. C. dos; DELFINI, L. T. Análise de distribuição espacial de araucária (*Araucaria angustifolia*) em algumas áreas do Estado do Pará, utilizando a função K de Ripley. *Scientia Forestalis*, 66: 38-45, 2004.
- ARAUJO, M. M.; OSAQUI, H.; MELO, R. S. Padrão de distribuição espacial de castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K), barragem do contado, Floresta Nacional de Carajás, Pará. In: **Simpósio Latino-Americano Sobre Manejo Florestal**, 2: 367-375, 2001,
- BUDKE, J. C.; GIEHL, E. L. H.; ATHAYDE, E. A.; ZÁCHIA, R. A. Distribuição espacial de *Mesadenella cuspidata* (Lindl.) Garay (Orchidaceae) em uma floresta ribeirinha em Santa Maria, RS, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 18: 31-35, 2004.
- CUNHA, E. S. M. e DANTAS, F. L. C. G. **O que você precisa saber sobre a castanha- do-brasil: de informações técnicas a curiosidades**. Secretaria de Estado de Meio Ambiente, Ciência e Tecnologia (Sema), Macapá, 1997. 43p.

ENEIDE TAUMATURGO MACAMBIRA BRAGA FERNANDES. Diversidade Morfológica E Produção De *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Lecythidaceae) No Sudeste Do Estado Do Acre - Brasil. Caxambu: **Anais do Viii Congresso de Ecologia do Brasil**, 2007. 2 p.

FEARNSIDE, P.M. Desmatamento na Amazônia: Dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazonica** 36: 395-400, 2006.

GALLO-DE-OLIVEIRA, L. M., SOBRAL, M., **Relatório da vegetação para o plano de manejo do Parque Nacional do Juruena**. Disponível em: [http://www.parquenacionaldojuruena.com.br/home/juruena/paginas/anexo/Anexo\\_2\\_Relatorio\\_Veg\\_final\\_PNJU.pdf](http://www.parquenacionaldojuruena.com.br/home/juruena/paginas/anexo/Anexo_2_Relatorio_Veg_final_PNJU.pdf). Acesso em: 12 de outubro de 2013.

HAIRSTON, N. G., HILL, R. AND RITTE, U. **The interpretation of aggregation patterns**. In: **Patil**, University Park, 1971. 30p.

IRGANG, G. V.; FIGUEIREDO, C. R. **Análise do Parque Nacional do Juruena**. Brasília: Alessandro O. Neiva, 2011. 163 p.

IRGANG, G. V.; FIGUEIREDO, C. R. **Análise da região do Parque Nacional do Juruena**. Brasília: Alessandro O. Neiva, 2011. 141p.

KAINER, K.A.; WADT, L.H.O.; GOMES-SILVA, D.A.P.; CAPANU, M. Liana loads and their association with *Bertholletia excelsa* fruit and nut production, diameter growth and crown attributes. **Journal of Tropical Ecology**, 22: 147-154, 2006.

KREBS, C. J. **Ecological Methodology**. Addison Wesley Educational Publishers, Menlo Park, 1999. 53p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, v. 1, 2000, 368 p.

MITTERMEIER, R.A., C.G. MITTERMEIER, T.M. BROOKS, J.D. PILGRIM, W.R. KONSTANT, G.A.B. FONSECA & C. KORMOS. Wilderness and biodiversity conservation. **Proceedings of the National Academy of Science** 100: 10309-10313, 2003.

MORI, S.A.; PRANCE, G.T. **Lecythidaceae-Part II: The zygomorphic-flowered New World genera (*Couropita*, *Corythophora*, *Bertholletia*, *Couratari*, *Eschweilera*, & *Lecythis*), with a study of secondary xylem of Neotropical Lecythidaceae**. New York. New York Botanical Garden. 1990. 366p. (Monografia, curso de Ciências Biológicas).

MORISITA, M. Measuring of the dispersion of individuals and analysis of the distributional patterns. **Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ.** 2: 215–235, 1959.

MORISITA, M. Id-index, a measure of dispersion of individuals. *Researches on Population Ecology*, 4: 1–7, 1962.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853-858, 2000.

SANTOS, D.; SARROUH, B.; SANTOS, J.; PÉREZ, V.; SILVA, S. Potencialidades e aplicações da fermentação semi-sólida em Biotecnologia. **Janus**, 4: 164-183, 2006.

SILVA, A. N. da et al. Germinação de sementes de castanheira-do-pará armazenadas em areia úmida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44: 11-19, 2009.

PENA-CLAROS, M.; BOOT, R.G. A.; DORADO LORA, J.; ZONTA, A. Enrichment planting of *Betholletia excelsa* in secondary forest in the Bolivian Amazon: effect of cutting line width on survival, growth and crown traits. **Forest Ecology and Management**, 161: 159-168, 2002.

PERES, C. A.; BAIDER C. Seed dispersal, spatial distribution and population structure of Brazilnut trees (*Bertholletia excelsa*) in southern Amazonia. **Journal of Tropical Ecology**, 13: 595-616, 1997.

PETER M. C. **Sustainable Harvest of Non-timber Plant Resources in Tropical Moist Forest: An Ecological Primer**. Biodiversity Support Program, Washington, DC. 1994, 61p.

PINHEIRO, M. dos R. R. **Estudo de variabilidade genética de *Aspergillus flavus* como base para o desenvolvimento de PCR Multiplex para detecção de fungos produtores de aflatoxinas em castanha-do-brasil e castanha de caju**. Brasília. Universidade Católica de Brasília. 2004. 149p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia).

Presidência da República Casa Civil. Decreto nº 10846, de 05 de janeiro de 2006. **Decreto de 5 de Junho de 2006**. Brasília, Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Dnn/Dnn10846.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Dnn/Dnn10846.htm)>.

Acesso em: 20 de junho de 2013.

SALOMÃO, R.P. Densidade, estrutura e distribuição espacial da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H. & B.) em dois platôs de floresta ombrófila densa na Amazônia setentrional brasileira. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi Ciências Naturais**, 4: 11-5, 2009.

SCOLES, R.; GRIBEL, R. Population Structure of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) Stands in Two Areas with Different Occupation Histories in the Brazilian Amazon. **Hum Ecol**, 38: 455-464, 2011.

TONINI, H.; ARCO-VERDE, M. F. **Dendometria de espécies nativas em plantios homogêneos no estado de Roraima - ANDIROBA (*carapa guianensis* aubl.), CASTANHA-DO-BRASIL (*bertolletia excelsa* B.), IPÊ-ROXO (*tabebuia avellaneda* lorentz ex griseb.) e JATOBÁ (*hymenea courbaril* L.)**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2005. 28 p.

TONINI, H., COSTA, P. D., & KAMINSKI, P. E. Estrutura e produção de duas populações nativas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* o. Berg) em Roraima. **Floresta**, 38: 445-457, 2008.

VIANA, V.M., MELLO, R. A., MORAES, L. M., MENDES, N. T., Ecologia e manejo de populações de castanha-do-Pará em reservas extrativistas Xapurí, Estado do Acre, in: Gascon, C., Mountinho, P. (Eds.), **Floresta Amazônica: Dinâmica, Regeneração e Manejo**. 8: 277-292, 1998.

WADT, L.H.O.; KAINER, K.A.; GOMES-SILVA, D.A.P. Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in Southwestern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, 211: 371-384, 2005.

ZUIDEMA, P. A. & R. G. A. BOOT, **Ecology and Management of the Brazil Nut Tree (*Bertholletia excelsa*)**. PROMAB (PROMAB Scientific Series 6), 2002. 111p.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Existe variabilidade genética nas duas populações em estudo, sendo esta maior a nível intrapopulacional;

Os marcadores de microssatélite descritos para a espécie apresentaram PIC elevado (superior a 0,5);

A população CAR é a que apresenta os indivíduos mais diferentes entre si que a população AGRO;

Segundo os métodos de agrupamento (UPGMA e Structure), as populações se separaram em grupos distintos, nos quais, em cada grupo, havia apenas indivíduos da mesma população;

Não houve, nos indivíduos analisados, árvores geneticamente idênticas;

Os indivíduos amostrados podem ser utilizados em bancos de germoplasma para a espécie para um programa de melhoramento;

A densidade de árvores foi de 0,119 e 0,032 ind. ha<sup>-1</sup>;

O DAP médio dos indivíduos coletados foi superior a 100 cm e a idade acima de 200 anos;

A idade média em anos foi de 254 e 208;

Todas as castanheiras possuíam copa aberta e cerne de cor branca;

Os indivíduos amostrados, com idade superior a 45 anos estavam em período reprodutivo, e;

A distribuição espacial das castanheiras nas áreas de estudo no PNJu é agregada.