

POLIANA VICENTE TIAGO

ETNOBOTÂNICA, MORFOANATOMIA,
HISTOQUÍMICA, FITOQUÍMICA E DIVERSIDADE
GENÉTICA DE *Hymenaea courbaril* L.,
LEGUMINOSAE

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2016



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



POLIANA VICENTE TIAGO

**ETNOBOTÂNICA, MORFOANATOMIA,
HISTOQUÍMICA, FITOQUÍMICA E DIVERSIDADE
GENÉTICA DE *Hymenaea courbaril* L.,
LEGUMINOSAE**

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

Orientadora: Prof^a Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi

Coorientadora: Prof^a Dra. Ivone Vieira da Silva

Coorientador: Prof^o Dr. José Martins Fernandes

ALTA FLORESTA-MT

2016

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Daniela Fernanda de Oliveira Matos CRB1/3075

TIAGO, Poliana Vicente.

T551e Etnobotânica, Morfoanatomia, Histoquímica, Fitoquímica e diversidade genética de *Hymenaea courbaril* L., leguminosae / Poliana Vicente Tiago – Alta Floresta, 2016.
122 f. ; il.

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

Orientadora: Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi.

Coorientação: Dra. Ivone Vieira da Silva.

Dr. José Martins Fernandes.

1. Diversidade. 2. Jatobá. 3. Medicinal. I. Título.

CDD 577

ETNOBOTÂNICA, MORFOANATOMIA,
HISTOQUÍMICA, FITOQUÍMICA E DIVERSIDADE
GENÉTICA DE *Hymenaea courbaril* L.,
LEGUMINOSAE

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

Aprovada em: ____/____/____

Prof^a. D.Sc. Ana Aparecida Bandini Rossi
UNEMAT/ PPGBioAgro

Prof^a. D.Sc. Ivone Vieira da Silva
UNEMAT/ PPGBioAgro

Prof^o. D.Sc. José Martins Fernandes
UNEMAT/ Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

Prof^o. D.Sc. Osmar Alves Lameira
Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia
Embrapa Amazônia Oriental

DEDICATÓRIA

A minha família por seu amor sem fim...

Mamãe Vilma Vicente Calixto Tiago e papai Paulo Roberto Tiago obrigada por tudo que fizeram e fazem por mim, vocês são essenciais em minha vida.

Minha mana querida Auana Vicente Tiago, acredito muito no seu sucesso, você vai longe garota.

Nestor Vicente Calixto, Benedita Aves Calixto, Alfredo Tiago e Antônia Maria Tiago (*in memoriam*). Apesar de não estar comigo neste momento, sei que sempre estarão cuidando de mim.

Minha querida orientadora Prof^a. Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi, nossa musa inspiradora. Você é um exemplo de profissional, só tenho que agradecer por Deus ter posto essa pessoa maravilhosa em minha vida.

Ao meu eterno e doce Adriano Aygnes Carpejani, gostaria de lhe dedicar pelas inúmeras vezes que você me enxergou melhor do que eu sou.

Dedico com todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus, onipresente e onipotente.

À Universidade do Estado de Mato Grosso pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela concessão da Bolsa.

Aos informantes do capítulo de etnobotânica, pois compartilharam conosco seus conhecimentos.

À Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES) na pessoa da Prof^a Dra. Vanessa de Andrade Royo, por todo o apoio nas análises fitoquímicas.

Ao Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM) na pessoa da Prof^a. Dra. Célia Regina Araújo Soares Lopes.

Aos meus Coorientadores: Prof^o Dr. José Martins Fernandes pela colaboração no trabalho de etnobotânica e na diagnose taxonômica, e a prof^a. Dra. Ivone Vieira da Silva pelo conhecimento compartilhado.

A todos que fazem parte da família do laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular pelo apoio e amizade.

Aos colegas de turma do Mestrado 2014 em especial, Auana, Diene e Alessandro, pelo companheirismo nesta jornada. Creio que nossa amizade será para sempre.

Diene, talvez não existam palavras suficientes e significativas que me permitam agradecer você com justiça, com o devido merecimento. Sua ajuda e seu apoio foram para eu de valor inestimável. Mas posso me expressar através da limitação de meras palavras, e com elas lhe prestar esta humilde, mas sincero, agradecimento.

OBRIGADA MINHA AMIGA!

Obrigada a todas as pessoas que contribuíram para meu sucesso e para meu crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.

“Talvez eu não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.

Não sou o que eu deveria ser, mas sou o que irei ser e graças a Deus não sou o que eu era”.

(Martin Luther King)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE SIGLAS	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	04
3. CAPÍTULOS.....	08
3.1 ETNOBOTÂNICA DE <i>Hymenaea courbaril</i> L. (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE) NA REGIÃO DE ALTA FLORESTA, MATO GROSSO, BRASIL.....	08
Resumo.....	09
Abstract.....	10
Introdução	11
Material e Métodos.....	14
Resultados e Discussão.....	18
Conclusões.....	26
Referências Bibliográficas.....	27
3.2. CARACTERIZAÇÃO MORFOANATOMICA, FITOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA DE <i>Hymenaea courbaril</i> L. (LEGUMINOSAE), OCORRENTE NA AMAZÔNIA MERIDIONAL.....	32
Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução	35
Material e Métodos.....	37
Resultados	41
Discussão.....	49
Conclusões.....	52

Referências Bibliográficas.....	53
3.3. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE <i>Hymenaea courbaril</i> L. LEGUMINOSAE: UMA ESPÉCIE NATIVA BRASILEIRA.....	59
Resumo.....	60
Abstract.....	61
Introdução.....	62
Material e Métodos.....	64
Resultados e Discussão.....	70
Conclusões.....	85
Referências Bibliográficas.....	86
4. CONCLUSÕES GERAIS.....	90
APÊNDICE.....	91
ANEXO.....	92

LISTA DE TABELAS

TABELAS	Página
CAPÍTULO 1	
1. Categorias de uso e tipos de uso do jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i>) na região norte do Estado de Mato Grosso. Parte usada: F=folha, C=casca, Cl=caule, R=raiz, S=semente, Ft=fruto, Fl=flor.....	24
2. Usos principais e concordância quanto aos usos do jatobá – <i>Hymenaea courbaril</i> na região norte do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso. NICUC – nº de informantes que citou uso da categoria; NICUP – nº de informantes citando usos principais; CUP – índice de concordância de uso principal; FC – fator de correção; e CUPc – CUP corrigida.....	25
CAPÍTULO 2	
1. Caracterização fitoquímica do caule e folíolo de <i>Hymenaea courbaril</i> .	48
CAPÍTULO 3	
1. Relação dos <i>primers</i> ISSR utilizados na caracterização molecular dos 54 indivíduos de <i>Hymenaea courbaril</i> provenientes de três populações nativas no norte do Estado de Mato Grosso. TM = Temperatura de anelamento referente ao <i>primer</i>	67
2. Relação do número de produtos amplificados para cada <i>primer</i> com as respectivas porcentagens de polimorfismo (%P), em análise de ISSR, em populações naturais de <i>H. courbaril</i> , localizadas em municípios do portal da Amazônia no norte do Estado de Mato Grosso. NT= número total de bandas amplificadas; NP= número total de bandas polimórficas; PIC= conteúdo de informação polimórfica	71
3. Índice de diversidade de Shannon, diversidade genética de Nei e porcentagem (%) de locos polimórficos em populações naturais de <i>H. courbaril</i> , localizadas no norte do Estado de Mato Grosso, Brasil. .	79
4. Diversidade genética de Nei em populações naturais de <i>H. courbaril</i> , localizadas em municípios no norte do Estado de Mato Grosso, Brasil. HT = diversidade genética total (heterozigosidade); HS = diversidade genética dentro das populações; GST = relação entre a diversidade genética entre populações e a diversidade genética total; e Nm = fluxo gênico.	80

5.	Medidas originais de distância genética e identidade genética de Nei (1978) entre populações naturais de <i>H. courbaril</i>	81
6.	Análise molecular da variância (AMOVA) nas três populações naturais de <i>H. courbaril</i> , localizadas em municípios do portal da Amazônia no norte do Estado de Mato Grosso estudadas a partir de dez marcadores ISSR.....	82
7.	Probabilidades médias de modelos e desvio padrão e Delta K para simulações para diferentes valores de K.	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Página
CAPÍTULO 1	
1. Localização dos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirantes, Estado de Mato Grosso.	15
2. Locais onde os entrevistados obtêm os recursos do jatobá na região norte do Estado de Mato Grosso.	18
3. Partes do jatobá (<i>H. courbaril</i>) citadas pelos informantes como importantes no reconhecimento da espécie.	20
4. <i>Hymenaea courbaril</i> : A) ramo jovem com folhas e inflorescência; B) Botão floral; C) Flor aberta; D) Folíolo; E) Estame; F) Carpelo; G) Fruto; H) Detalhe dos pontos resiníferos.	22
CAPÍTULO 2	
1. <i>Hymenaea courbaril</i> : A) ramo jovem com folhas e inflorescência; B) Botão floral; C) Flor aberta; D) Folíolo; E) Estame; F) Carpelo; G) Fruto; H) Detalhe dos pontos resiníferos.	42
2. Anatomia do caule de <i>Hymenaea courbaril</i> em secções transversais. A- Aspecto geral do caule. B- Epiderme, córtex, feixe vascular e medula. C- Detalhe da sílica no parênquima. D- Aspecto do córtex. E- Detalhe da epiderme e tricomas tectores. F- Detalhe do canal de secreção. ME: Medula; FV: Feixe Vascular; FB: Feixe de Fibra; S: Sílica; CS: Cavidade secretora; EP: Epiderme; FE: Felogênio; TT: Tricoma Tector.....	44
3. Anatomia da folha de <i>Hymenaea courbaril</i> em secções transversais e paradérmicas. A- Face adaxial. B- Face abaxial com a disposição geral dos estômatos. C- Aspecto geral da nervura central. D- Aspecto do mesofilo foliar. E- Canais de secreção. F- Detalhe dos braquiesclereídeos. G- Estômato em secção transversal. FV: Feixe Vascular; FB: Feixe de Fibra; CS: Cavidade secretora; EP: Epiderme; PP: Parênquima Paliçádico; PL: Parênquima Lacunoso; BR: Braquiesclereídeo; ES: Estômato..	45
4. Secções transversais do caule e folha de <i>Hymenaea courbaril</i> , evidenciando os testes histoquímicos positivos indicados pelas setas. A- Vanilina no caule; B- Vanilina na folha; C- Reagente de NADI no caule; D- Reagente de NADI na folha; E- Sudan IV no caule; F- Sudan IV na folha; G- Tricloreto de Antimônio na folha; H- Ácido sulfúrico na folha; I- 2,4 – Dinitrofenilhidrazina no caule; J- 2,4	

– Dinitrofenilhidrazina na folha; K- Cloreto de ferro III 10% no caule; L- Cloreto de ferro III 10% na folha.....	47
--	----

CAPÍTULO 3

1. Localização geográfica das três áreas de coleta no municípios de Alta Floresta, Comunidade Central (AF), Pista do Cabeça (PC) e Marcelândia (MA).....	65
2. Perfil eletroforético do iniciador DiAC3'G com 24 indivíduos de <i>H. courbaril</i> da população MA. M= marcador de 100 bp..	70
3. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos de <i>H. courbaril</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR para a população MA no município de Marcelândia. Correlação cofenética (CCC): 0,8769; Distorção (%): 2,2199; Estresse (%): 14,8991	73
4. Localização geográfica dos vinte e quatro genótipos de <i>H. courbaril</i> analisados neste estudo para população de MA no município de Marcelândia - MT.....	74
5. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos de <i>H. courbaril</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR para a população de AF, no município de Alta Floresta; Correlação cofenética (CCC): 0,807; Distorção (%): 1,9002; Estresse (%): 13,7973.....	75
6. Localização geográfica dos dezessete genótipos de <i>H. courbaril</i> analisados neste estudo para a população natural de AF, no município de Alta Floresta – MT	76
7. Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos de <i>H. courbaril</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR para a população da PC no município de Alta Floresta. Correlação cofenética (CCC): 0,793 Distorção (%): 1,222; Estresse (%): 11,0769.....	77
8. Localização geográfica dos treze genótipos de <i>H. courbaril</i> analisados neste estudo para população da PC, no município de Alta Floresta - MT.....	78
9. Dendrograma de similaridade genética entre populações de <i>H. courbaril</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR.	81
10. Dendrograma de similaridade genética entre os 54 indivíduos de <i>H. courbaril</i> , definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR.	

Correlação cofenética (CCC): 0,8547; Distorção (%): 1,9807; Estresse (%): 14,0771.	84
11. Representação dos 54 indivíduos de <i>H. courbaril</i> das três populações estudadas em grupos segundo dados moleculares com 10 ISSRs utilizando o programa “Structure”. Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem (quatro grupos, K = 4)..	84

LISTA DE SIGLAS (ou de ABREVIATURAS)

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

alt Altura

CAPES Coordenação de Pesquisa Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

cm Centímetro

CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Compr Comprimento

CTAB Brometo de cetiltrimetilamônio

DMSO Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo

DNA ácido desoxirribonucleico

dNTP desoxiribonucleotídeo

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HCl Hidróxido de Cloro

KCl Cloreto de Potássio

m Metro

MgCl₂ Cloreto de Magnésio

min Minuto

mL Mililitro

mM Mili molar

mm milímetro

ng Nanograma

°C Temperatura em graus Celsius

pb pares de bases

PPGBioAGRO Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos

PRPPG Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação

rpm Rotação por minutos

UNEMAT Universidade do Estado de Mato Grosso

V Volts

v.v Volume/Volume

β Beta

μL Microlitro

RESUMO

TIAGO, Poliana Vicente. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, março de 2016. **ETNOBOTÂNICA, MORFOANATOMIA, HISTOQUÍMICA, FITOQUÍMICA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Hymenaea courbaril* L., LEGUMINOSAE.** Orientadora: Dra. Ana Aparecida Bandini Rossi. Co-orientadores: Dra. Ivone Vieira da Silva e Dr. José Martins Fernandes.

Hymenaea courbaril L. (jatobá) é uma espécie arbórea, pertencente à família Leguminosae, com distribuição neotropical. No Brasil, a família está distribuída em todos os domínios fitogeográficos, com 2.807 espécies. A espécie possui diversos usos populares, sendo utilizada na regeneração de ambientes e recomposição de reservas florestais. Possui grande importância econômica por fornecer madeira de boa qualidade, apresentar potencial farmacológico, e ser empregada na alimentação humana e animal. Objetivou-se realizar um estudo etnobotânico, uma caracterização morfoanatômica, histoquímica e fitoquímica do caule e folíolos de *Hymenaea courbaril*, bem como analisar a diversidade genética de populações nativas da espécie. Participaram do estudo etnobotânico 26 moradores dos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirante, selecionados pelo método de Bola de Neve. Dados etnobotânicos foram obtidos a partir de perguntas fechadas e abertas com os entrevistados. Para a morfoanatomia e histoquímica, o material botânico (caule e folíolos) foi analisado no laboratório de Biologia Vegetal. Realizou-se seções transversais e paradermicas nos órgãos, obtidos à mão livre, com auxílio de lâmina de barbear, duplamente corados (Azul de Astra e Fucsina Básica) e montadas em lâminas histológicas. O material fresco foi submetido aos testes histoquímicos, vanilina clorídrica, tricloreto de antimônio, cloreto de ferro III 10%, ácido tânico/cloreto de ferro III 3%, sudão IV, lugol e ácido sulfúrico. Para o estudo fitoquímico os órgãos vegetativos foram submetidos aos testes de saponinas, taninos, alcalóides, flavonóides, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, esteróides e terpenos. Para análise da diversidade genética foram genotipados 54 indivíduos de 3 populações nativas no norte do Estado de Mato Grosso com 10 *primers* ISSR. O estudo etnobotânico evidenciou que a maioria dos informantes nasceu na região Sul do Brasil, e residem há mais de 20 anos na região de Alta Floresta, praticando agricultura familiar. A espécie é usada nas categorias alimentar, artesanato, ecológica, madeireira, medicinal e tecnológica, totalizando 42 tipos de usos, onde 83% dos usos foram incluídos na categoria medicinal. Destacando-se seu uso no tratamento da gripe, anemia e farinha do fruto para alimento. No estudo morfológico verificou nos folíolos e frutos características como glândulas resiníferas, cavidades secretoras no caule e nos folíolos. Na fito-histoquímica detectou-se a presença de taninos, flavonoides, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, saponinas, óleos essenciais, lipídios, mucilagens, terpenóides e esteróides nos canais secretores do caule e dos folíolos. Os resultados da análise molecular revelaram que há diversidade genética nas populações estudadas e que a maior diversidade está em nível intrapopulacional do que interpopulacional nas populações estudadas. Que as populações com maior similaridade genética são as mais próximas geograficamente. Através do levantamento etnobotânico pode-se verificar que *Hymenaea courbaril* apresenta grande interesse

econômico e medicinal para os moradores da região norte de Mato Grosso. Quanto às análises Fito-histoquímica foi possível evidenciar a presença de metabólitos secundários com potencial medicinal. A variabilidade genética propõe-se, que sejam mantidos indivíduos de ambas as populações, a fim de preservar a diversidade genética intrapopulacional possibilitando assim a manutenção e conservação efetiva da espécie.

Palavras-chave: Canais secretores, Etnoconhecimento, ISSR, Jatobá.

ABSTRACT

TIAGO, Poliana Vicente. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, March 2016. **ETHNOBOTANY, MORPHO-ANATOMY, HISTOCHEMISTRY, PHYTOCHEMISTRY AND GENETIC DIVERSITY OF *Hymenaea courbaril* L., LEGUMINOSAE.** Adviser: Dr. Ana Aparecida Bandini Rossi. Co-advisers: Dr. Ivone vieira da Silva and Dr. José Martins Fernandes.

Hymenaea courbaril L. ('jatobá') is a tree species of the family Leguminosae with neotropical geographic distribution. In Brazil, the family is distributed across all phytogeographic domains, with 2,807 species. The species has many popular uses, it is employed in the regeneration of environments and recovery of forest reserves. It has great economic importance for its good-quality wood, having pharmacological potential and being used in human and animal food. The objective was to perform an ethnobotanical study and a morpho-anatomical, histochemical, and phytochemical characterization of stem and leaflets of *Hymenaea courbaril* L., as well as analyze the genetic diversity of native populations of this species. Twenty-six residents of the municipalities of Alta Floresta, Carlinda and Nova Bandeirante participated of the ethnobotanical study. They were selected by the snowball sampling method. Ethnobotanical data were obtained through closed and open-ended questions answered by the interviewees. For the morpho-anatomy and histochemical analyses, the botanical material (leaflets and stem) was analyzed in the Vegetable Biology Laboratory. Transverse and paradermal sections were made in the organs. They were obtained by hand, using a razor blade. Subsequently, they were doubly stained (Astra Blue and Basic Fuchsin) and mounted on histological slides. The fresh material was submitted to histochemical tests, vanillin-HCl, antimony trichloride, 10% ferric chloride III, tannic acid/3% ferric chloride III, sudan IV, lugol's solution, and sulfuric acid. For the phytochemical study, the vegetative organs were submitted to saponins, tannins, alkaloids, flavonoids, cardiotonic glycosides, anthraquinones, steroids and terpenes tests. For the analysis of genetic diversity, fifty-four (54) individuals from three native populations in north Mato Grosso state were genotyped with 10 ISSR primers. The ethnobotanical study showed that the majority of informants were born in the South Brazil and they have lived over 20 years in the region of Alta Floresta, practicing family farming. The species is used in the food, crafts, ecology, forestry, medicine, and technology categories, totaling 42 types of use, with 83% of them included in the medicine category. Noteworthy uses are treatment of the flu and anemia, and consumption of the fruit flour. The morphological study on leaflets and fruits showed characteristics like resin glands, and secretory cavities in stem and leaflets. In the plant-histochemical analysis we detected presence of tannins, flavonoids, cardiotonic glycosides, anthraquinones, saponins, essential oils, lipids, mucilages, terpenoids and steroids in the secretory canals of the stem and leaflets. The results of molecular analysis revealed that there is genetic diversity in the studied populations. The diversity is more intrapopulation than interpopulation in the studied populations. The populations with the highest genetic similarity are closest geographically. Through ethnobotany survey can be observed that *Hymenaea courbaril* show great economic and medical interest for residents of north Mato Grosso. Regarding phyto-histochemical analysis was possible to

evince the presence of secondary metabolites with medicinal potential. The genetic variability, we propose that individuals from both populations be kept in order to preserve the intrapopulation genetic diversity, thereby allowing the maintenance and effective conservation of the species.

Key words: Ethno-knowledge, ISSR, Jatobá, Secretary canals

1. INTRODUÇÃO GERAL

Hymenaea courbaril L. (jatobá) é uma espécie arbórea, (Caesalpinioideae Leguminosae) que possui uma distribuição geográfica com abrangência neotropical (LIMA e PINTO, 2016). No Brasil sua distribuição se estende por todas as regiões geográficas (ANDRADE et al., 2010).

É uma espécie com grande importância ecológica, pois serve de alimento para muitas espécies e para recomposição vegetal (GOMES et al., 2013). Com grande potencial econômico devido à utilização do caule como madeira na construção civil e na indústria de móveis (MELO e MENDES, 2005; LORENZI, 2008). A espécie sofre constante ameaça de suas populações nativas, decorrente da exploração comercial e do desmatamento de áreas de ocorrência em função do avanço da fronteira agrícola na região, reduzindo progressivamente as populações naturais desta espécie.

H. courbaril possui diversos usos populares (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 2002; CARAMORI et al., 2004; LORENZI, 2008). Há registro de uso da folha para o controle biológico de insetos que atacam plantas (SHANLEY, 2005). No tratamento de problemas pulmonares, gripe, bronquite, vermes, e no tratamento de câncer de próstata (DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2002; SHANLEY, 2005). No preparo de refrigerante ou fermentado para produzir bebidas alcoólicas (PARROTTA et al., 1995). A casca, utilizada pelos índios para fazerem canoas (RIZZINI, 1971). Seu uso em reflorestamentos apresenta potencial como planta fixadora de nitrogênio e armazenadora de carbono (MORAES et al., 2013).

Devido a sua extensão e localização geográfica a região Amazônica abriga a maior área de concentração de florestas tropicais, e abriga alguns dos ecossistemas com maior diversidade biológica do mundo (CAPOBIANCO et al. 2001). Pesquisas e estudos locais e de como as espécies locais se comportam são importantes, visto que muito pouco ainda se conhece dos potenciais das plantas presentes nestes ecossistemas (GOTTLIEB et al., 1996; CIPRIANO, et al. 2014). As populações que moram na região Amazônica são detentora na sua maioria de amplo conhecimento sobre os potenciais usos de muitas destas espécies (PRANCE 1998), tal conhecimento é uma ferramenta muito útil na conservação dos ecossistemas naturais. Desta forma a Organização Mundial da Saúde (OMS) faz relato de que 80% da população mundial dependem da medicina natural (SPRINGFIELD et al.,

2005). No Brasil, a medicina natural é uma opção medicamentosa que atende às necessidades de vários municípios no que se refere ao atendimento primário à saúde (FUNARI e FERRO, 2005; BORBA e MACEDO, 2006).

As plantas foram por muito tempo o único recurso terapêutico utilizado no cuidado da saúde dos seres humanos, sendo, assim um conhecimento milenar que faz parte da evolução humana (ALMEIDA, 1993). Para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), medicamento fitoterápico é obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais, que apresenta eficácia de uso, assim como reprodutibilidade e constância de sua qualidade, a eficácia deve ser validada por meio de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas (BRASIL, 2010). Estudo que levantem estas informações, e deem suporte para o estabelecimento de princípios de uso, como indicações e posologia são cada vez mais importantes.

Neste sentido estudos de anatomia vegetal, testes fitoquímicos e histoquímicos são utilizados para propiciar um maior conhecimento das plantas, pois através destes testes é possível identificar espécies e os compostos produzidos por estas. Tais testes permitem o reconhecimento do tipo de compostos e sua origem nos tecidos da planta (FANK-DE-CARVALHO e GRACIANO RIBEIRO, 2005; SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006; VASCONCELOS-FILHO, 2008; SANTOS et al., 2009).

A localização de metabólitos nos tecidos e/ou determinadas células vegetais torna-se um fator de elevada importância, pois auxilia na indicação da melhor parte do vegetal a ser utilizada nas terapias (SILVA 2008). Identificar estas substâncias pode auxiliar na fabricação de medicamentos e no tratamento de muitas doenças, pois sua utilização muitas vezes está ligada a um fator cultural, onde comunidades tradicionais possuem conhecimentos básicos do uso de plantas medicinais e estas informações são trocadas entre os indivíduos num processo dinâmico de aquisição e perda (AMOROZO, 2002), que pode muitas vezes ser perdido ao longo da história ou levar ao uso errôneo de partes da planta.

Com a fragmentação da vegetação nos ambientes que ocorrem na região amazônica muitas das espécies locais respondem ao processo de fragmentação gerando respostas morfológicas e/ou molecular, que podem interferir na qualidade e quantidade de metabolitos que é produzido por estas espécies (GOMES et al.,

2014). Em populações fragmentadas que permanecem pequenas e isoladas por muitas gerações pode ocorrer o aumento da endogamia, decorrente da maior probabilidade de autofecundação, devido o cruzamento entre indivíduos aparentados e a divergência entre populações devido o cruzamento entre poucos indivíduos remanescentes e a limitação do fluxo de genes entre os fragmentos (ENGLAND et al., 2002; MARTINS et al., 2008). Assim estudos da variabilidade genética de populações naturais buscam descrever os níveis e a distribuição das populações.

Portanto, a biologia molecular tem fornecido ferramentas valiosas para análises de diversidade e estrutura populacional para muitas espécies, talvez a mais importante dessas ferramentas, seja o uso de marcadores moleculares à nível de DNA, que detectam diferenças simples na informação genética presente em dois ou mais indivíduos e auxiliam na caracterização de variabilidade e estrutura populacional (FAJARDO et al., 1998; STRUSS e PLIESKE 1998; PESTSOVA et al., 2000).

Neste contexto, objetivamos um estudo etnobotânico de *Hymenaea courbaril* L. na região de Alta Floresta, Norte do Estado de Mato Grosso, bem como uma caracterização morfoanatômica, histoquímica e molecular em indivíduos de populações nativas da espécie, visando conhecer a diversidade e a potencialidade da espécie, e assim, fornecer subsídios que possam contribuir para o seu conhecimento e conservação.

Este estudo está organizado em três capítulos. O capítulo 1 realizou-se um estudo etnobotânico da espécie *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) na região de Alta Floresta, Mato Grosso.

O capítulo 2 discute sobre a morfoanatomia, a histoquímica e fitoquímica dos órgãos vegetativos de *H. courbaril*, visando histolocalizar as estruturas secretoras e/ou células secretoras que armazenam metabólitos secundários, cujas atribuições conferem potencial medicinal, além de verificar seu papel no desenvolvimento e sobrevivência da espécie.

O capítulo 3 aborda sobre avaliação da diversidade genética e a estrutura populacional em populações naturais de *H. courbaril* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores ISSR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do Agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciência**, Caracas, v.27, n.7, p.64-72, 2002.
- ALMEIDA, E. R. **As plantas medicinais brasileiras**. São Paulo: Hemus, p. 339, 1993.
- AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leveger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16(2), p. 189-203, 2002.
- ANDRADE L. A.; BRUNO R. L. A.; OLIVEIRA L. S. B.; SILVA H. T. F. . Aspectos biométricos de frutos e sementes, grau de umidade e superação de dormência de jatobá. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 2, p.293-299, 2010.
- BARTH, S.; MELCHINGER, A. E.; LUBBERSTEDT, T. L. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, p.495–505, 2002
- BORBA, A M; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 771-782, 2006.
- BRASIL. Ministério da saúde. **Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário oficial da republica federativa do Brasil. Brasília, DF. 2010.
- CAPOBIANCO, J. P. R., VERÍSSIMO, A., MOREIRA, A., SAWYER, F., DOS SANTOS, I., & PINTO LP (Org.). Biodiversidade na Amazônia brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação e uso sustentável e repartição de benefícios. Estação Liberdade, 2001. 540 p.
- CARAMORI, S. S.; LIMA, C. S.; FERNANDES, K. F. Biochemical characterization of selected plant species from Brazilian savannas. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.47, p.2, p.35-42, 2004.
- CIPRIANO, J.; MARTINS, L.; DEUS, M. D. S. M.; PERON, A. P. O gênero *Hymenaea* e suas espécies mais importantes do ponto de vista econômico e medicinal para o Brasil. **Caderno de Pesquisa**, v. 26, n. 2, p. 41-51, 2014.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2ª ed. São Paulo: UNESP, 2002.
- ENGLAND, P. R., USHER, A. V., WHELAN, R. J.; YRE, D. J. Microsatellite diversity and genetic structure of fragmented populations of the rare, fire- dependent shrub *Grevillea macleayana*. **Molecular Ecology**, p.967-977, 2002.

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M.; ROCA, W. M.; SANCHEZ, I. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using rapid markers. **Euphytica**. v. 101, p.341-347, 1998.

FANK-DE-CARVALHO, S. M.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (Amaranthaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.19, n.2, p.377-390, 2005.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 178-82, 2005.

GIUSTINA, L. D.; LUZ, L. N.; VIEIRA, F. S.; ROSSI, F. S.; SOARES-LOPES, C. R.; PEREIRA, T. N.; ROSSI, A. A. B.. Population structure and genetic diversity in natural populations of *Theobroma speciosum* Willd. Ex Spreng (Malvaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 3510-3519, 2014.

GOMES, A D; LIMA, R A; FACUNDO, V A. Identificação de classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos de *Solanum acanthodes* hook e seu potencial fungicida sobre *Candida albicans* in vitro. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 736-744, 2014.

GOMES, M. B.; FARIA, A. A.; CERQUEIRA, D. S.; BAILÃO, L. L. Avaliação de métodos para a superação de dormência de sementes de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 1, n. 9, 2013.

GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. M. B. **Biodiversidade. Um enfoque químico-biológico**. Editora UFRJ, Rio de Janeiro, 1996.

LIMA, H. C.; PINTO, R. B. **Hymenaea in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 18 Jan. 2016.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5.ed. v.1. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 3 68, 2008.

MARTINS, K.; SANTOS, J. D.; GAIOTTO, F. A.; MORENO, M. A.; KAGEYAMA. Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae – Caesalpinioideae) em fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, n.1, p.61-69, 2008.

MELO, M. G. G.; MENDES, A. M. S. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**. n. 9. Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2005.

MORAES, C. B. de; UESUGI, G.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; GUERRINI, I. A.; MORI, E. S. Influência de biorreguladores no crescimento de *Hymenaea courbaril*. **Revista do Instituto Florestal**, v. 25, n. 2, p. 223-229, 2013. Nota científica.

PARROTTA, J. A., FRANCIS, J. K., & DE ALMEIDA, R. R. Trees of the Tapajós: A photographic field guide. **General Technical Report-International Institute of Tropical Forestry, USDA Forest Service**, n. 1, 1995.

PESTSOVA E., GANAL M. W.; RODER M. S. **Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of wheat**. *Genome*, p.689–697, 2000.

PRANCE, G. T. The Ethnobotany of the Amazonians as tool for the conservation of biological diversity. Córdoba. **Monografías del Jardín Botánico de Córdoba**, v. 5, p. 135-143 p., 1998.

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**, v. 12, n. 4, p. 4998-5006, 2013.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**: Manual de dendrologia brasileira. São Paulo: Editora E. Blücher, 1971. 294 p.

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

SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; THADEO, M.; MEIRA, R. M. S. A.; ASCENSÃO, L. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v.30, n.3, p.481-489, 2006

SANTOS, M. C. A.; FREITAS, S. D. P.; AROUCHA, E. M. M.; SANTOS, A. L. A. Anatomia e histoquímica de folhas e raízes de vinca (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.9, n.1, p.24-30, 2009.

SILVA, M. D. **Estudo Farmacobotânico de três espécies medicinais da caatinga em Pernambuco**. 2008. 75f. (Dissertação Mestrado em Botânica)-Departamento de Biologia Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, Recife, 2008.

SHANLEY, Patricia; MEDINA, Gabriel (Ed.). **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. CIFOR, 2005, 300p.

SPRINGFIELD, E.P.; EAGLES, P.K.F.; SCOTT, G. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. **Journal Ethnopharmacol**, v. 101, p. 75-83, 2005.

STRUSS D.; PLIESKE J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, p.308–315, 1998.

VASCONCELOS-FILHO, S. C. **Caracterização anatômica e histoquímica de folhas, calogênese e fitoquímica de calos de murici [*Byrsonima verbascifolia***

(L.) Rich. Ex. Jus]. 2008. 70f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, 2008.

3. CAPÍTULOS

3.1.ETNOBOTÂNICA DE *Hymenaea courbaril* L. (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE) NA REGIÃO DE ALTA FLORESTA, MATO GROSSO, BRASIL

Resumo - (Etnobotânica de *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) na região de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil). O gênero *Hymenaea* pertence a subfamília Caesalpinioideae, com distribuição na América do Sul, sendo o centros de diversidade na Amazônia e Floresta Atlântica. Este trabalho teve como objetivo conhecer os usos da espécie *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) entre moradores da região norte do Estado de Mato Grosso, importante região da Amazônia brasileira. Participaram do estudo 26 moradores dos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirante, selecionados pelo método de Bola de Neve. Dados socioeconômicos e etnobotânicos foram obtidos a partir de perguntas fechadas e abertas com os entrevistados. Os dados foram analisados de forma qualitativa e quantitativa com a concordância de uso entre os informantes. A maioria dos entrevistados nasceu na região Sul do Brasil, mas residem há mais de 20 anos na região, com predominância de agricultores familiares. A maioria dos entrevistados relatou ter plantas de Jatobá na propriedade, reconhecida principalmente pela folha casca e fruto. A espécie é usada nas categorias alimentar, artesanato, ecológica, madeireira, medicinal e tecnológica, totalizando 42 tipos de usos. Deste, 83% foram incluídos na categoria medicinal. As maiores concordâncias de uso entre os entrevistados foram tratamento da gripe (CUPc=68), anemia (CUPc=56) e farinha do fruto para alimento (CUPc 48). Verificou-se que *H. courbaril* é uma espécie de uso múltiplo, principalmente como medicinal, e que os entrevistados possuem amplo conhecimento sobre esta espécie nativa na Amazônia.

Palavras-chave: Amazônia Mato-grossense, anemia, conservação, gripe, uso múltiplo

Abstract - (Ethnobotany of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) in the region of Alta Floresta-MT, Mato Grosso State, Brazil). The *Hymenaea* genus belongs subfamily Caesalpinioideae with distribution in South America. Amazon and Atlantic Forest are centers of diversity of this genus. This study aimed to know the uses of the species *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) among residents in north region of Mato Grosso state, an important region of the Brazilian Amazon. Twenty-six residents of the municipalities of Alta Floresta, Carlinda and Nova Bandeirante participated in this study. They were selected by the snowball sampling method. Socioeconomic and ethnobotanical data were obtained through closed and open-ended questions answered by the interviewees. The data were analyzed qualitatively and quantitatively by the concordance of use among the informants. Most of the interviewees were born in the South of Brazil, but they have lived over 20 years in the region. Predominantly, they are family farmers. Most of the respondents reported to have jatoba plants at their home. They mainly recognized these plants by its leaf, bark, and fruit. The species is used in the food, crafts, ecology, forestry, medicine, and technology categories, totaling 42 types of use. Eighty-three percent of the uses were included in the medicine category. The highest concordances of use among the interviewees were obtained for treating the flu (CCMU=68) and anemia (CCMU=56) and consumption of the fruit flour (CCMU=48). We observed that *H. courbaril* is a species of multiple uses mainly as a medicinal plant and the interviewees have broad knowledge of this native Amazon species.

Key Words: anemia, conservation, flu, multiple use, Mato Grosso Amazon

Introdução

Leguminosae Adans. possui 727 gêneros e aproximadamente 19.325 espécies, sendo a terceira maior família de angiospermas no mundo (LEWIS et al., 2005). No Brasil, está representada por 222 gêneros e 2.807 espécies, sendo a principal família em espécies no país (LIMA et al., 2016). A família é distinguida por apresentar folhas compostas, alternas e com pulvinos, uma pétala adaxial diferenciada, ovário monocarpelar e fruto do tipo legume (CHAPPILL, 1995). É tradicionalmente dividida nas subfamílias Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (POLHILL, 1994).

Segundo Graham e Vance (2003) e Wojciechowski et al. (2004), Leguminosae é a segunda maior família com potencial econômico no mundo devido a alta produção de semente, legume, folha, raiz e flor consumidos como alimentos, correspondendo a cerca de 30% do consumo de proteína no mundo. É utilizada na alimentação, forrageamento, fixação de nitrogênio, marcenaria, medicina popular, como apícola, combustível, pesticida, corante, goma, óleo essencial e ornamental, principalmente espécies dos gêneros *Arachis* L., *Cajanus* Adans., *Copaifera* L., *Desmodium* Desv., *Glycine* Willd., *Hymenaea* L., *Hymenolobium* Benth., *Inga* Mill., *Phaseolus* L., *Piptadenia* Benth., *Stylosanthes* Sw., *Zornia* J.F. Gmel., *Vigna* Savi, *Schizolobium* Vogel (SKERMAN et al., 1991; BRANDÃO, 1992; PIRANI e LAURINO 1994; LORENZI e MATOS 2008; LORENZI 2009; FERNANDES et al., 2014).

No Brasil, a família está distribuída em todos os domínios fitogeográficos, sendo que 1.158 espécies são encontradas na Floresta Amazônica (LIMA et al., 2016). No país, diversos estudos relatam a grande importância de uso da família, destacando-se frente às outras famílias (ALBUQUERQUE e ANDRADE 2002; PASA et al., 2005; BOTREL et al., 2006; FERNANDES et al., 2014).

O gênero *Hymenaea* pertence a subfamília Caesalpinioideae e está representado por 15 espécies, com distribuição na América do Sul, com apenas uma espécie chegando até Cuba, com centros de diversidade na Amazônia e Floresta Atlântica (MACKINDER, 2005). Todas as espécies do gênero ocorrem no Brasil, com representantes em todos os estados do país (LIMA e PINTO 2016). É constituído por árvores de troncos retos e cilíndricos, com até 2 metros de diâmetro e até 30 metros de altura, de súber liso e de coloração cinza; as folhas são bifolioladas; a floração e a frutificação iniciam-se entre oito e doze anos de idade da planta e não são basicamente anuais; sua floração no Brasil ocorre durante os meses de dezembro a

fevereiro e os frutos amadurecem entre os meses de agosto e setembro (BARROSO, 1991).

Suas flores são hermafroditas, diclamídeas e pentâmeras, com cálice dialissépalo e corola dialipétala, com 10 estames e um pistilo; o fruto é do tipo legume nucóide com arilo farináceo de sabor adocicado, com elevado teor de fibra alimentar e grande quantidade de cálcio e magnésio, sendo muito utilizado na alimentação humana e animal (BARROSO, 1991; LORENZI, 2000; PINTO et al., 2000; LORENZI e MATOS, 2002; BATISTA et al., 2011).

No Brasil, as espécies do gênero *Hymenaea* de maior expressão de uso são: *H. stigonocarpa* Mart. ex Hayne, *H. courbaril* L. e *H. martiana* Hayne (Barroso et al., 1991). *H. courbaril* é uma espécie de grande importância econômica por fornecer madeira de boa qualidade, apresentar potencial farmacológico, e ser empregada na alimentação humana e animal (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 2002; CARAMORI et al., 2004; LORENZI, 2008), há registros de plantio da espécie em sistemas agroflorestais e programas de reflorestamento para recuperação ambiental (COSTA et al., 2011).

Hymenaea courbaril é popularmente conhecida como jatobá, jataí, jataí amarelo, jataí peba, jataí vermelho, jitaí, farinheira, jataíba, burandã, imbiúva e jatobá miúdo (LORENZI, 2002). Na região amazônica é conhecida como jutaí, jutaí açu, jutaí bravo, jutaí grande, jataí peba, jataí uba, jataí uva, jataíba, jataúba, jatioba, jatiuba e jupati (CIPRIANO et al., 2014). É uma espécie arbórea de troncos retos e cilíndricos, de súber liso e de coloração cinza (CIPRIANO et al., 2014). A floração e a frutificação da espécie tem início entre oito e doze anos de idade, e não são necessariamente anuais (CIPRIANO et al., 2014). No Brasil, florescem durante os meses de dezembro a fevereiro e os frutos amadurecem entre os meses de agosto e setembro (BARROSO, 1991).

A árvore de jatobá fornece muitos produtos de grande importância (LORENZI, 2008). Sua madeira possui alta durabilidade e apresenta excelente aceitação no mercado externo (SHANLEY, 2005). A casca possui uso medicinal contra gripe, bronquite e diarreia e age como um tônico recuperando a saúde do corpo (CIPRIANO et al., 2014). Além da casca a resina de jatobá, conhecida como jutaicaica, também pode ser usada como remédio assim como o fruto (SHANLEY e

MEDINA, 2005). Informações que foram registradas a partir de estudos etnobotânicos.

Segundo Schultes (1962) e Clément (1998), a Etnobotânica é a ciência que determina as interações entre uma sociedade e as plantas no seu ambiente. Mas recentemente, Ming et al. (2002), citaram que a etnobotânica tem apresentado vários enfoques como o social, cultural, agrícola, paisagístico, taxonômico, conservacionista, genéticos e linguísticos. Dentre os usos das plantas registrados pelos trabalhos de etnobotânica, estão os das plantas medicinais. Segundo Hostettmann et al. (2003) as plantas medicinais vêm sendo utilizadas como medicamento terapêutico no tratamento de diversas doenças, que ao longo dos séculos representou a única alternativa de tratamento das doenças do homem (DE AZEVEDO e SILVA, 2013). No Brasil, a medicina popular apresenta aspectos peculiares, pois não está limitada apenas a comunidades tradicionais como os povos indígenas, ribeirinhos amazônicos e quilombolas, por exemplo, mas é praticada também por grupos de pessoas não tradicionais que habitam os biomas brasileiros, como em grandes centros urbanos (DI STASI, 2007).

O conhecimento e o resgate de informações do saber local sobre as plantas são fundamentais em comunidades rurais, pois os remédios caseiros surgem como alternativa de cura, muitas vezes a única devido à falta de outros recursos para cuidar da saúde (CUNHA e BORTOLOTTI, 2011).

Deste modo, os estudos etnobotânicos têm sido desenvolvidos com o objetivo de registrar o saber tradicional e particularmente relacionado ao uso dos recursos da flora (GUARIM NETO et al., 2000). Pois segundo Pereira et al. (2012), o etnoconhecimento das espécies vegetais associado ao uso e manejo consciente, podem ser ótima alternativa de subsistência, e assim garantir a manutenção da diversidade cultural e vegetal. Diante do exposto, o objetivo deste capítulo foi realizar um estudo etnobotânico da espécie *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) na região de Alta Floresta, Mato Grosso.

Material e Métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado nos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirantes, localizados no Norte do Estado de Mato Grosso (Figura 1). O clima da região é classificado segundo Köppen (1948) com o tipo AWI, caracterizado como tropical chuvoso, com presença de uma estação seca e uma chuvosa bem definida. A temperatura anual da região varia de 19,6°C à 32,4°C (TARIFA, 2011).

A precipitação pluviométrica anual encontra-se em torno de 2.400 mm com umidade relativa média anual de 70% (FERREIRA, 2001). A vegetação da região é predominantemente constituída por floresta ombrófila aberta e densa, floresta estacional semidecidual e decidual (LIRA, 2011). O relevo faz parte do Planalto Apicás-Sucurundi e da Depressão Interplanáltica Amazônica Meridional (FERREIRA, 2001) e apresenta várias serras em forma de cristas, que servem como divisores de água, posicionando-se entre 200 e 300 m de altitude (FARID, 1992). Tem como contribuinte os tributários do Rio Teles Pires e seus afluentes Rio Paranaíta, Apicás, Carlinda, Cristalino e Santa Helena (RODRIGUES, 1996; FERREIRA, 2001; NOVAES FILHO et al., 2007).

A região de Alta Floresta foi colonizada no fim da década de 70, a partir de um projeto de colonização privado (INDECO) (SMERMAN et al., 2002). Sendo que veio para a região, inicialmente, colonos na sua maioria do estado do Paraná, principalmente da região norte daquele estado, porém, com o passar do tempo a região recebeu colonos das mais diversas regiões do Brasil (ROSA et al., 2003), colonos que trouxeram consigo os mais diversos conhecimentos populares. Tais colonos desenvolveram na região as mais diversas atividades como a monocultura de café, a indústria madeireira, a pecuária extensiva, e em alguns casos o garimpo (ALVES JUNIOR, 2006), atividades que tiveram grande importância sobre o perfil dos colonos que aqui se estabeleceram.

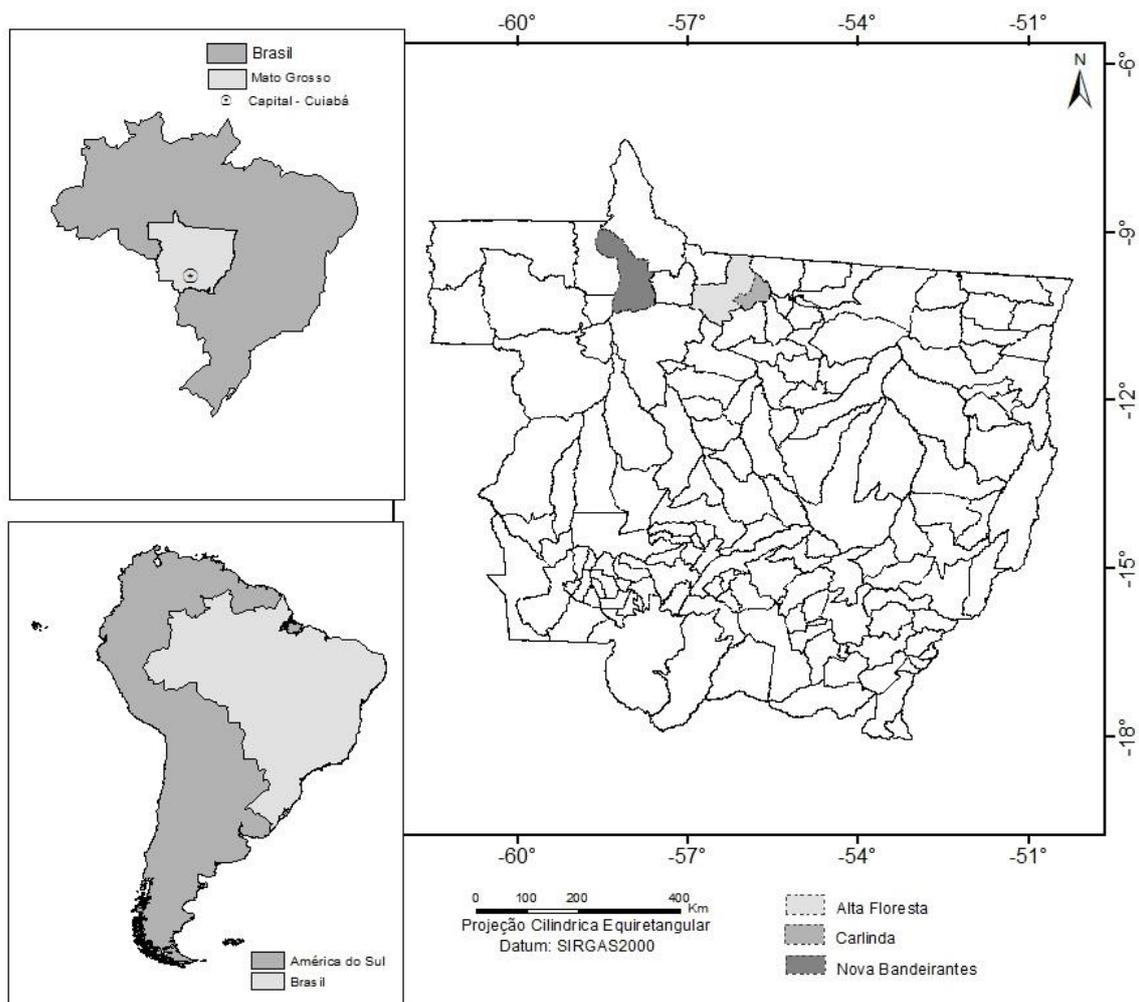


Figura 1. Localização dos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirantes, Estado de Mato Grosso.

Metodologia

O estudo ocorreu entre dezembro de 2014 e janeiro de 2016 a partir de entrevistas realizadas com moradores dos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirantes. Participaram da pesquisa 26 informantes sendo estes 17 de Alta Floresta, 5 de Carlinda e 4 de Nova Bandeirantes. Selecionados a partir do método Bola de Neve (ALBUQUERQUE e LUCENA 2004).

Para realização da pesquisa foi estabelecido um primeiro contato com os conhecedores do Jatobá nos municípios de Alta Floresta, Carlinda e Nova Bandeirantes-MT, com o intuito de apresentar o projeto de pesquisa. Após a explanação do projeto foi realizado a leitura do termo Consentimento Livre e

Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), onde os informantes eram livres para participar ou não da pesquisa.

O projeto de pesquisa foi submetido a apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) sob o número 52641915.8.0000.5166, parecer consubstanciado 1.507.091 aprovado em 19 de Abril de 2016 (Anexo A).

A guia de entrevista foi dividida em socioeconômica contendo dez questões e a outra parte com o conhecimento sobre a espécie *Hymenaea courbaril* com dezessete questões. As perguntas que nortearam o trabalho foram: Quais os usos que você conhece do jatobazeiro? Alguma recomendação especial para coleta e preparo? O jatobá é indicado para quais enfermidades? Como é preparado? As respostas dos informantes foram anotadas e gravadas com o consentimento dos mesmos a fim de guardar registro fidedigno das falas dos informantes (APÊNDICE B).

Durante o estudo etnobotânico, amostras férteis do jatobá foram coletadas seguindo técnicas usuais (FIDALGO e BONONI, 1989) e depositadas no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM). Foram identificadas com base na revisão taxonômica de Lee e Langenheim (1975) e a partir de comparação com exsicatas depositadas na coleção do HERBAM.

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

Os dados foram analisados de forma qualitativa com o uso dos relatos e de forma quantitativa aplicando-se o índice adaptado por Amorozo e Gély (1988) para avaliar a importância relativa da espécie entre os informantes com três ou mais citações, bem como sua concordância de uso. Os cálculos foram realizados da seguinte forma:

$$\text{CUP} = \frac{\text{número de informantes que citaram usos principais} \times 100}{\text{número de informantes que citaram uso da categoria}}$$

$$FC = \frac{\text{número de informantes que citaram a categoria}}{\text{número de informantes que citaram a categoria mais citada}}$$

$$CUP_c = CUP \times FC$$

Após encontrar os valores da concordância quanto aos usos principais (CUP) e do fator de correção (FC), utilizou-se da fórmula $CUP_c = CUP \times FC$, para chegar à porcentagem corrigida de concordância quanto aos usos principais.

Resultados e discussão

Os entrevistados de Alta Floresta apresentam idades entre 30 e 69 anos, sendo que nove estão entre 60 e 69 anos, sete entre 50 e 59 anos e quatro entre 30 e 39 anos, principalmente. Os entrevistados nasceram principalmente no Sul (46%), Nordeste (27%) e Sudeste do Brasil (23%). Apenas um informante nasceu no Centro Oeste. Tal fato relaciona-se a origem de pequenos agricultores vindos em sua maioria do Sul e Sudeste do Brasil, e uma parcela de garimpeiros vindos das regiões Norte e Nordeste (SELUCHINESK, 2008). Foram 13 informantes do sexo masculino (M) e 13 do feminino (F). Houve predomínio de entrevistados casados (70%), demonstrando que os conhecimentos tradicionais, inclusive do jatobá, podem estar sendo passados para os mais jovens da família. Os informantes citaram 14 profissões distintas, destacando-se “agricultura familiar” com 31%. A maioria dos informantes reside na zona rural, com 65%, o restante na zona urbana. Demonstrando que os informantes residem há bastante tempo no município de Alta Floresta, onde 20 informantes residem entre 20 e 39 anos, e apenas seis residem entre um e 19 anos, evidenciando que os entrevistados tiveram tempo de interagir com os recursos da vegetação local e diferentes povos na região.

Os informantes declararam adquirir os recursos do jatobá predominantemente nas próprias propriedades, vizinhos ou até mesmo compram para fazer uso (Figura 2).

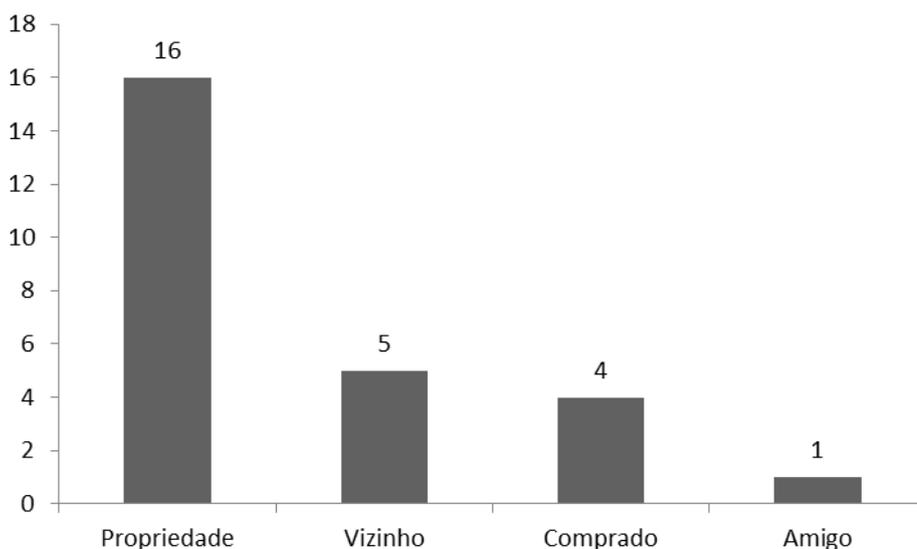


Figura 2. Locais onde os entrevistados obtêm os recursos do jatobá na região norte do Estado de Mato Grosso.

Todos os informantes conhecem popularmente a espécie *H. courbaril* como jatobá. Citaram oito características morfológicas que ajudam no reconhecimento desta espécie, destacando-se as folhas, com 17 citações, casca, com 12 citações, fruto e porte arbóreo com 12 citações cada (Figura 3). Eles associaram a morfologia das folhas com a planta popularmente conhecida como “pata de vaca” [*Bauhinia* spp, Leguminosae] pelo fato de apresentar geralmente as folhas bipartidas. Ainda quanto a folha, deram bastante importância para o brilho, além de lisas e largas. Outra característica que ajuda no reconhecimento da espécie, segundo os entrevistados, é quanto a estrutura externa da casca, parecida com a casca da castanha da Amazônia [*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl. – Lecythidaceae]. Provavelmente a variedade rosa, que possui coloração interna avermelhada quando cortada. Outra característica marcante mencionada pelos informantes são os frutos com 10 citações, que possui coloração marrom, são grandes e fácil de ser visualizados quando estão nas copas das árvores.

Informante 01: “Pela folha, pela casca quando tem o fruto também de longe a pessoa conhece ele, quando tá novo você conhece pela folha que a folha dele é tipo uma pata de vaca folha dele é aberta néh com duas e quando ele tá alto reconhece pelo troco dele pelo caule que a casca dele é diferente néh a casca dele é lisa e é bem branca, não tem outra arvore que parece com ele não.”

Segundo Ramires et al. (2012) as populações humanas estabelecem seus critérios de identificação e designação de recursos naturais que eles usam, formando seus próprios sistemas de classificação da natureza, que podem ser investigados através de estudos da biologia popular.

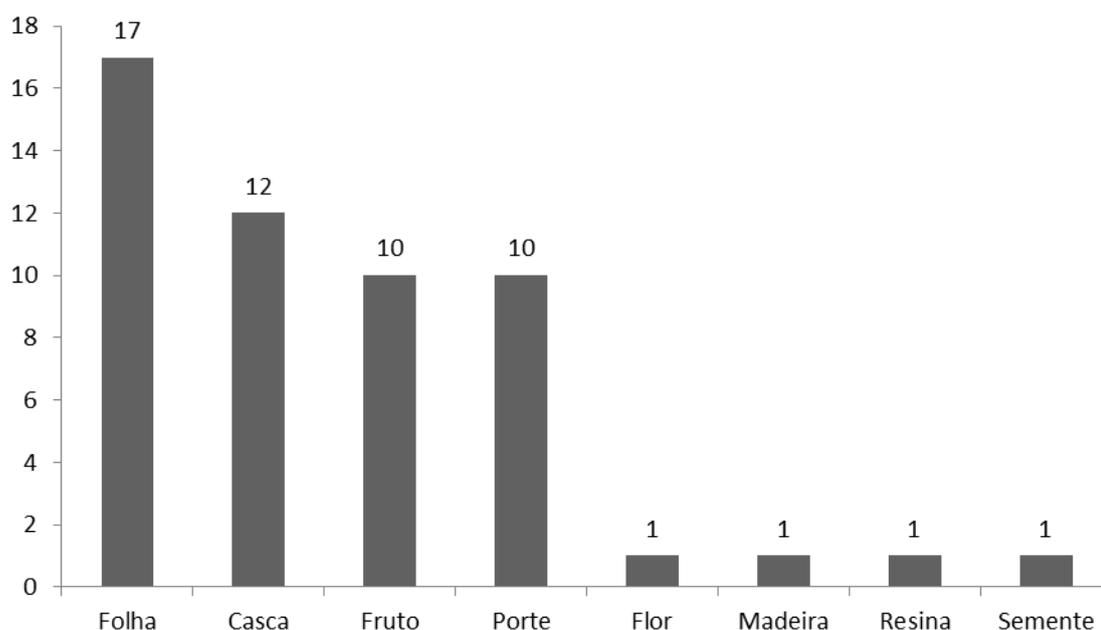


Figura 3. Partes do jatobá (*H. courbaril*) citadas pelos informantes como importantes no reconhecimento da espécie.

As características morfológicas do jatobá consideradas importantes pelos informantes para o reconhecimento desta espécie também foram verificadas durante a realização da diagnose morfológica da espécie (Figura 4), sendo: árvores, 8-10 m alt.; ramos jovens tomentosos a esparsamente tomentosos. Estípulas 1,2-1,5 cm compr.; lanceoladas, caducas. Folhas alternas, compostas, bifoliadas, nectários extraflorais ausentes; pecíolo 1-2 cm compr.; glabro; folíolos 7,2-10,5x2,7-4 cm, estreitamente ovados a oblongos, falcados, ápice acuminado a agudo, base oblíqua, faces adaxial e abaxial glabras, glândulas resiníferas presentes, margem inteira. Inflorescências paniculadas, terminais; raque 4-7,5 cm compr., tomentosa; brácteas caducas. Flores grandes, hipanto 5-6 mm compr., campanulado; cálice 4-mera, dialissépalo, 0,8-1,1 cm compr., sépalas ovadas, densamente lanosas externamente; corola 5-mera, dialissépala, 0,7-0,9 cm compr., pétalas ovadas a elípticas, glabras externamente; androceu dialistêmone, homodínamo, 10 estames, filetes 1-1,5 cm compr., anteras 4 mm compr.; gineceu estipitado, estípite 2-3 mm compr., incluso no hipanto, ovário súpero, 5-6 mm compr., glabro, estilete 1,5-2 cm compr., estigma capitado. Legume nucóide 6-9,5x3-3,8 cm, estreitamente oblongos, transversalmente semicirculares, marrons, glândulas resiníferas presentes externamente, base e ápice arredondados, raramente truncados; sementes 1,6-2,6x1,2-2 cm, circulares, marrons, arilo farináceo, pleurograma ausente.

Material examinado: BRASIL. MATO GROSSO: **Alta Floresta**, 10°21'23" S, 56°58'58" W, 04/VI/2014, fr., *Soares-Lopes, C.R.A. et al. 7565* (HERBAM), Comunidade São Bento, 1ª Sul, beira da estrada, 29/X/2015, fl., *Fernandes, J.M. 1520* (HERBAM), 15/XII/2015, fl., *Fernandes, J.M. 1521* (HERBAM), Comunidade Central, Zona Rural, 09/X/2014, fr., *Tiago, P. V. 001* (HERBAM). **Paranaíta**, 28/II/2012, fr., *Soares-Lopes, C.R.A. et al. 5394* (HERBAM).

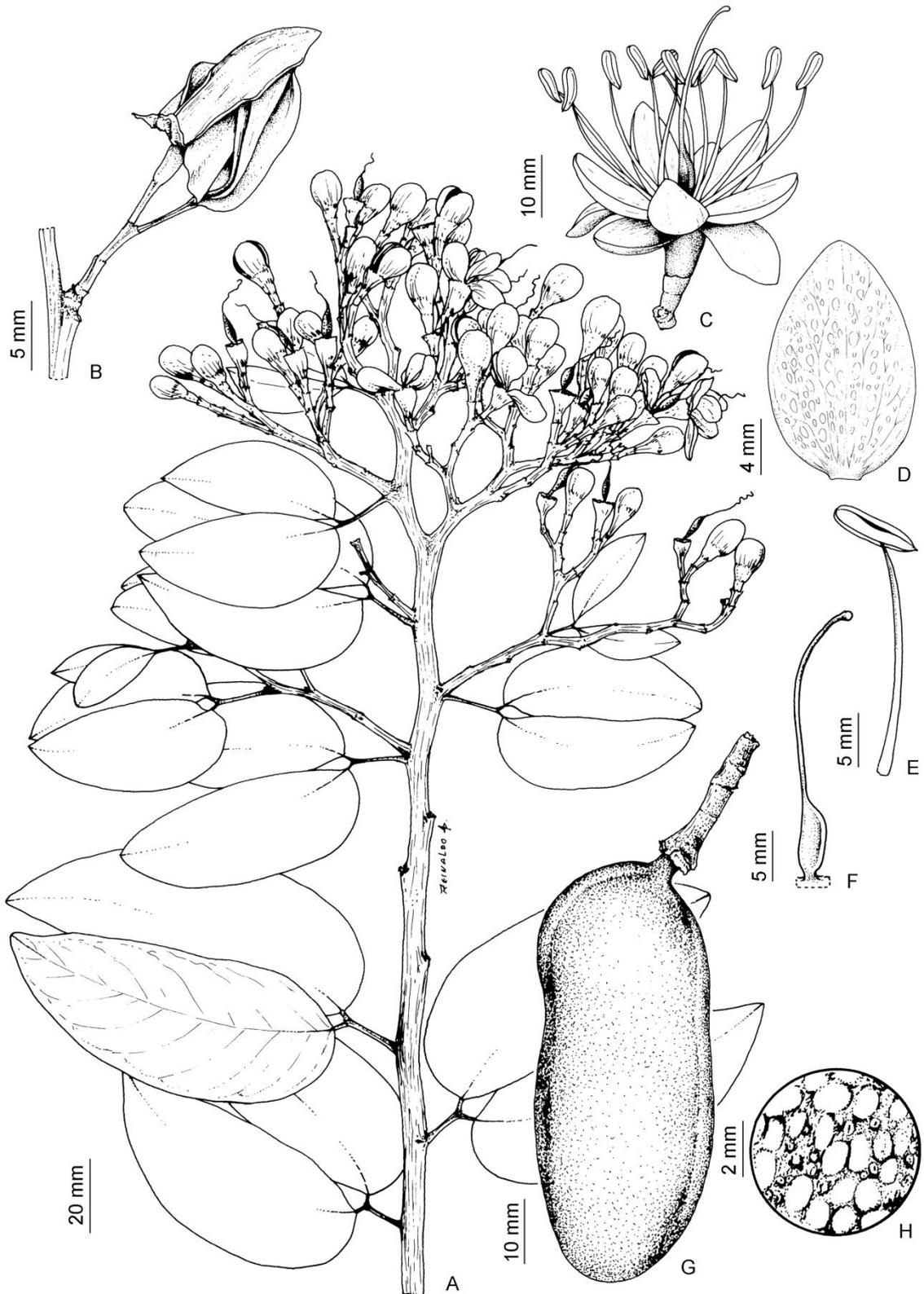


Figura 4. *Hymenaea courbaril*: A) ramo jovem com folhas e inflorescência; B) Botão floral; C) Flor aberta; D) Foliolo; E) Estame; F) Carpelo; G) Fruto; H) Detalhe dos pontos resiníferos.

Os informantes reconheceram seis categorias de usos para a espécie, sendo elas: alimentícia, artesanato, ecológico, madeireiro, medicinal e tecnológico, totalizando 42 tipos de usos (Tabela 1). Fica evidente que o jatobá é uma espécie que apresenta grande diversidade de uso na região de Alta Floresta, com diferentes possibilidades de uso popular. A categoria mais citada foi a medicinal e alimentícia. O uso do chá para tratar a gripe foi o mais expressivo pelos informantes (17 citações) seguido do uso da farinha do fruto (12 citações). Porém, vale ressaltar que esta espécie de Leguminosae apresenta uso múltiplo, destacando-se também o tratamento da anemia (14 citação), infecção pulmonar (8 citações), madeira para construção (7 citações), bronquite (4 citações), infecção geral (4 citações) e reumatismo (4 citações).

A categoria de uso medicinal também foi mais representativa nos estudos realizados por Cunha Bortolotto (2011), Andrade et al. (2013), Ferreira et al. (2014) e de Moraes Rego et al. (2016), em seus estudos etnobotânicos.

Os usos de *H. courbaril* com maior concordância entre os entrevistados estão na tabela 2. Os dois usos que se destacaram foram para o tratamento da gripe e anemia com CUPPc de 68 e 56, respectivamente. Seguido pelo uso alimentar da farinha produzida a partir do arilo das sementes do jatobá, com CUPc de 48. Todos os outros usos com maior concordância são medicinais (Tabela 2).

Vários trabalhos relatam que *H. courbaril* é indicado para o tratamento de gripe (De SOUZA FERREIRA et al., 2015; PEREIRA et al., 2015). Assim como para o tratamento da gripe, há registros de uso do jatobá para o tratamento de anemia como o relatado por Bezerra et al. (2013) e Macêdo et al. (2015).

Shanley et al. (2005), relatam que a farinha que recobre a sementes pode ser consumida naturalmente. Fato também comprovado por Barroso (1991) e Batista et al. (2011), que relatam que a farinha possui elevado teor de fibra alimentar e grandes quantidades de cálcio e magnésio. Desta forma, sugere-se o cultivo desta espécie para o uso familiar, bem como, a sua inclusão na lista de plantas medicinais de interesse do Ministério da Saúde do Brasil. Atualmente, esta lista é composta por 90 espécies de plantas medicinais, sendo oito espécies de Leguminosae mais as espécies do gênero *Copaifera* L. (Brasil, 2009), que segundo Queiroz et al. (2016) está representado no país por 24 espécies.

Tabela 1. Categorias de uso e tipos de uso do jatobá (*Hymenaea courbaril*) na região norte do Estado de Mato Grosso. Parte usada: F=folha, C=casca, Cl=caule, R=raiz, S=semente, Ft=fruto, Fl=flor.

Categoria	Tipos de usos	Nº citações	Parte usada	Preparo	
Alimentar	Farinha do fruto	12	Ft	<i>In natura</i>	
	Bebida	1	C	Curtida	
Artesanato	Colar	1	S	-	
	Boneca	1	Ft	-	
Ecológica	Reflorestamento	1	S	-	
Madeireira	Madeira construção	7	Cl	-	
Medicinal	Gripe	17	C	Infusão/Fervimento	
	Anemia	14	C	Fervimento	
	Infecção pulmonar	8	C/Ft	Infusão/Fervimento	
	Bronquite	4	C	Fervimento	
	Infecção geral	4	F/C	Infusão	
	Reumatismo	4	C	F/S/C	
	Fortalecer o pulmão	3	F/C	Infusão	
	Imunidade baixa	3	C/Ft/F	Infusão/Fervimento	
	Infecção urinária	3	C/F/Ft/Fl/S	Infusão	
	Próstata	3	C/F	Infusão/Fervimento	
	Vermífugo	3	C	Infusão/Fervimento	
	Cicatrizante	2	C	Fervimento	
	Emagrecedor	2	F/C	Infusão/ Fervimento	
	Infecção do intestino	2	C	Infusão	
	Pneumonia	2	F/C	Infusão	
	Utero	2	C/F/Ft/Fl/S	Infusão	
	Asma	1	C	Infusão	
	Baço	1	C/Ft	Fervimento/ <i>In natura</i>	
	Cistite	1	C	Infusão	
	Coração	1	C	Infusão/Fervimento	
	Depurativo do sangue	1	C/F	Infusão/Fervimento	
		Diarréia	1	C/F	Infusão/Fervimento
		Doenças venéreas	1	C/F	Infusão/Fervimento
		Estômago	1	F/Ft/C	Fervimento
		Fígado	1	C	Fervimento
		Fraqueza	1	C/F/Ft/Fl/S	Infusão
		Impotência sexual	1	C/F/Ft/Fl/S	Infusão
		Infecção da bexiga	1	F/Ft/C	Fervimento
		Laxante	1	C	Infusão
		Leucemia	1	C/F/Ft/Fl/S	Infusão
		Ovário	1	C/F	Infusão/Fervimento
		Pé de atleta	1	C/F/Ft	Fervimento/Tintura
		Prisão de ventre	1	C/F	Infusão/Fervimento
	Repor cartilagem	1	F/Ft/C	Infusão	
	Tuberculose	1	C/F	Infusão	
Tecnologia	Bote	2	Cl	-	

Tabela 2. Usos principais e concordância quanto aos usos do jatobá – *Hymenaea courbaril* na região norte do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso. NICUC – nº de informantes que citou uso da categoria; NICUP – nº de informantes citando usos principais; CUP – índice de concordância de uso principal; FC – fator de correção; e CUPc – CUP corrigida.

Categoria	Uso principal	NICUC	NICUP	CUP	FC	CUPc
Medicinal	Gripe	25	17	68,0	1,00	68
Medicinal	Anemia	25	14	56,0	1,00	56
Alimento	Farinha do fruto	12	12	100	0,48	48
Medicinal	Infecção pulmonar	25	8	32,0	1,00	32
Madeiraira	Madeira construção	7	7	100	0,28	28
Medicinal	Bronquite	25	4	16,0	1,00	16
Medicinal	Infecção geral	25	4	16,0	1,00	16
Medicinal	Reumatismo	25	4	16,0	1,00	16
Medicinal	Fortalecer o pulmão	25	3	12,0	1,00	12
Medicinal	Imunidade baixa	25	3	12,0	1,00	12
Medicinal	Infecção urinária	25	3	12,0	1,00	12
Medicinal	Próstata	25	3	12,0	1,00	12
Medicinal	Vermífugo	25	3	12,0	1,00	12

Conclusões

Constatou-se que os informantes da região de Alta Floresta utilizam a espécie *H. courbaril* para diferentes categorias de uso, destacando-se o recurso medicinal. Está sendo empregada no tratamento de vários problemas de saúde principalmente para a gripe, anemia e uso alimentar da farinha. Desta forma, sugere-se a inclusão desta espécie na lista de plantas medicinais de interesse do Ministério da Saúde.

Partindo-se do grande potencial econômico do jatobá, desde os recursos madeireiros até os não madeireiros conhecidos a partir do estudo realizado nesta região de Mato Grosso, fica claro a importância do uso sustentável desta espécie pela população em geral, bem como, valorização dos detentores de conhecimento popular, bem como a conservação desses recursos vegetais na Floresta Amazônica.

Referências Bibliográficas

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do Agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciência**, Caracas, v.27, n.7, p.64-72, 2002.

ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P. Seleção e escolha dos informantes. In: ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P. (eds.). **Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica**. Recife, PE: Livro Rápido / NUPEEA, p.189, 2004.

ALVES JR, Gilberto Torres. O planejamento governamental e seus reflexos na estrutura fundiária de MATO GROSSO. **Caminhos de Geografia**, v. 4, n. 9, 2006.

AMOROZO, M. C. M.; GÉLY, A. Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas. Barcarena, PA, Brasil. **Boletim do Museu Emílio Goeldi**, Série Botânica, Suplemento, v. 4, p. 47-129, 1988.

ANDRADE, J. K. B.; ANDRADE, A. B. A.; AZEVÊDO, S. M. A.; SANTOS PESSOA, R. M.; COSTA JÚNIOR, D. S. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no município de Poço de José de Moura–PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 4, p. 253-257, 2013.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, p. 326, 1991.

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASSO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa – MG: Imprensa Universitária, p. 443, 1999.

BEZERRA, G. P., DA SILVA GÓIS, R. W., DE BRITO, T. S., DE LIMA, F. J. B., BANDEIRA, M. A. M., ROMERO, N. R., & SANTIAGO, G. M. P.. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, p. 62–69, 2013.

BOTREL, R. T., RODRIGUES, L. A., GOMES, L. J., CARVALHO, D. D., & FONTES, M. A. L. Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 143-156, 2006.

BRANDÃO, M. Gênero *Aeschynomene* L.: espécies mineiras e sua distribuição no país. **Daphne** 2(3), p. 27-46, 1992.

BRASIL. Ministério da Saúde. Direção de Administração e Finanças. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. 2009. 1p. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso em: 16 março, 2016.

CHAPPILL, J. A. **Cladistic analysis of the Leguminosae: the development of an explicit phylogenetic hypothesis**. In: Crisp, M.; Doyle, J. J. (eds.). *Advances in Legume Systematic 7: Phylogeny*. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 1-9, 1995.

CIPRIANO, J.; MARTINS, L.; DEUS, M. D. S. M.; PERON, A. P. O gênero *Hymenaea* e suas espécies mais importantes do ponto de vista econômico e medicinal para o Brasil. **Caderno de Pesquisa**, v. 26, n. 2, p. 41-51, 2014.

CLÉMENT, D. The historical foundations of ethnobiology (1860-1899). **Journal of Ethnobiology** 18 (2), p. 161-187, 1998.

COSTA, W da S.; SOUZA, A L de.; SOUZA, P B de. Ecologia, Manejo, Silvicultura e Tecnologia de Espécies Nativas da Mata Atlântica. **Espécies Nativas da Mata Atlântica**. nº 2, 2011.

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

DE AZEVEDO, S. K. S.; SILVA, I. M.. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta botanica brasilica**, v. 20, n. 1, p. 185-94, 2013.

DE SOUZA FERREIRA, A L; DOS SANTOS BATISTA, C A; PASA, M C. Levantamento etnobotânico nas diferentes realidades de ensino. **Biodiversidade**, v. 14, n. 3, 2015.

DI STASI, L. C. O que faz uma planta medicinal funcionar. In: DI STASI, L. C. (Ed.). **Plantas medicinais verdades e mentiras: o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber**. São Paulo: UNESP, p. 37- 44, 2007.

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

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

FERREIRA, J. C. V. **Mato Grosso e Seus Municípios**. Cuiabá: Secretaria de Estado de Educação, 2001. 660p

FERREIRA, F. M., LOURENÇO, F. J. D. C., & BALIZA, D. P. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na comunidade quilombola Carreiros, Mercês– Minas Gerais. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 3, p. 205-212, 2014.

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

FILHO, J. P. N., SELVA, E. C., COUTO E. G., LEHMANN, J., JOHNSON M. S., RIHA, S. J. Distribuição de Carbono em Solos sob Floresta Primária na Amazônia Meridional. **Revista Árvore**. Viçosa: MG. v. 31, n. 1, 2007.

GRAHAM, P. H. & VANCE, C. P. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant Physiology**, v. 131, n. 3: p. 872-877. 1989.

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

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípio ativo de superiores**. São Carlos: EdUFscar, 2003. 152 p.

KÖPPEN, W. Climatologia. México, Buenos Aires, Ed. Fundo de Cultura Econômica. 1948.

LEE, Y.T. & J.H. LANGENHEIM. Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae). Univ. Calif. Publ. Bot. 69:1–105. 1975.

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.D.; MACKINDER, B.A. & LOCK, J.M. Leguminosae of the World. Royal Botanic Gardens, Kew, 2005. 577p.

LIMA, H. C.; PINTO, R. B. *Hymenaea* in: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 18 Jan. 2016.

LIMA, H.C. & PINTO, R.B. 2016. *Hymenaea* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22971>>. Acesso em: 18 Jan. 2016

LIMA, H.C. DE, QUEIROZ, L.P., MORIM, M.P., SOUZA, V.C., DUTRA, V.F., BORTOLUZZI, R.L.C., IGANCI, J.R.V., FORTUNATO, R.H., VAZ, A.M.S.F., SOUZA, E.R. DE, FILARDI, F.L.R., VALLS, J.F.M., GARCIA, F.C.P., FERNANDES, J.M., MARTINS-DA-SILVA, R.C.V., PEREZ, A.P.F., MANSANO, V.F., MIOTTO, S.T.S., TOZZI, A.M.G.A., MEIRELES, J.E., LIMA, L.C.P., OLIVEIRA, M.L.A.A., FLORES, A.S., TORKE, B.M., PINTO, R.B., LEWIS, G.P., BARROS, M.J.F., SCHÜTZ, R., PENNINGTON, T., KLITGAARD, B.B., RANDO, J.G., SCALON, V.R., CARDOSO, D.B.O.S., COSTA, L.C. DA, SILVA, M.J. DA, MOURA, T.M., BARROS, L.A.V. DE, SILVA, M.C.R., QUEIROZ, R.T., SARTORI, A.L.B., CAMARGO, R. A., LIMA, I.B., COSTA, J., SOARES, M.V.B., SNAK, C., SÃO-MATEUS, W., FALCÃO, M. J., MARTINS, M.V., REIS, I.P., CORDULA, E., MONTEIRO, V. 2016. Fabaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 18 Jan. 2016.

LIRA, G. **Conhecendo o Estado de Mato Grosso – IV MICRORREGIÃO DE ALTA FLORESTA**, Mato Grosso, p.38, 2011.

LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 544p.

LORENZI, H.E. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. ed., v.1. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2009.

MACÊDO¹, D. G., RIBEIRO¹, D. A., COUTINHO, H. D., MENEZES, I. R., & SOUZA¹, M. M. Práticas terapêuticas tradicionais: uso e conhecimento de plantas do cerrado no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 14, n. 6, p. 491-508, 2015.

MACKINDER, B. **Tribe Detarieae**. In Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B. & Lock, M. (eds) *Legumes of the world*. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew. p. 69-109. 2005.

MING, L. C.; HIDALGO, A. DE F. & SILVA, S. M. P da. 2002. **A etnobotânica e a conservação dos recursos genéticos**. In: Albuquerque, U. P. de; Alves, A. G. C.; Silva, C. B. L. e & Silva, V. A. da. *Atualidades em etnobiologia e etnoecologia*. Recife: Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia, 151p.

MORAES REGO, C. A. R.; ROCHA, A. E.; OLIVEIRA, C. A.; PACHECO, F. P. F. Levantamento etnobotânico em comunidade tradicional do assentamento Pedra Suada, do município de Cachoeira Grande, Maranhão, Brasil. **Acta Agronômica**, v. 65, n. 3, 2016.

PASA, M. C.; SOARES, J. J.; GUARIM NETO, G.. Estudo etnobotânico na comunidade de Conceição-Açu (alto da bacia do rio Aricá Açu, MT, Brasil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2, p. 195-207, 2005.

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

PIRANI, J. R. & LAURINO, M. C. **Flores e abelhas em São Paulo**. 2. ed. São Paulo: FAPESP, 192p. 1994.

POLHILL, R.M. **Classification of the Leguminosae**. In: Bisby, F. A.; Buckingham, J. and Harborne, J. B. (editors). *Phytochemical dictionary of the Leguminosae*. Chapman and Hill, Cambridge, 1994.

QUEIROZ, L.P., MARTINS-DA-SILVA, R.C.V., COSTA, J. 2016. *Copaifera* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22895>>. Acesso em: 18 Jan. 2016

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

RAMIRES, M.; CLAUZET, M.; BEGOSSI, A.. Folk taxonomy of fishes of artisanal fishermen of Ilha Bela (São Paulo/Brazil). **Biota Neotropica**, v. 12, n. 4, p. 29-40, 2012.

RODRIGUES, T. E. Solos da Amazônia. *In*: ALVAREZ, V. H.; *et al.* **O Solo nos Grandes Domínios Morfoclimáticos do Brasil e o Desenvolvimento Sustentado**. Viçosa/MG: SBCS; UFV; DPS, 1996. 930p.

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

SCHULTES, R. E. The role of the ethnobotanist in the search for new medicinal plants. **Lloydia** v.25, n. 4, p.257-266. 1962.

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

SHANLEY, P.; MEDINA, G. (Ed.). **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. CIFOR, 2005, 300p.

SKERMAN, P. J.; CAMERON, D. G. & RIVEROS, F. **Leguminosas forrajeras tropicales**. Roma – Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1991. 707p.

SMERMAN, Wagner et al. Larvicultura de pintado (*Pseudoplatystoma* sp.) em alta floresta–Mato Grosso. **Rev Biol Ciênc Terra**, v. 2, p. 1-7, 2002.

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

WOJCIECHOWSKI, M. F.; LAVIN, M. & SANDERSON, M. J. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. **American Journal of Botany** v.91, n.11, p.1846-1862. 2004.

3. CAPÍTULOS

3.2. CARACTERIZAÇÃO MORFOANATOMICA, FITOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA DE *Hymenaea courbaril* L. (LEGUMINOSAE), OCORRENTE NA AMAZÔNIA MERIDIONAL

Resumo – (Caracterização morfoanatômica, fitoquímica e histoquímica de *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae), ocorrente na Amazônia Meridional). O Brasil é um dos países com maior diversidade de fauna e flora com predominância de espécie com interesse econômico e medicinal. Dentre essa diversidade esta *Hymenaea courbaril* pertencente à família Leguminosae, conhecido popularmente como Jatobá e empregado na medicina popular. Este estudo objetivou caracterizar a morfoanatomia, histoquímica e fitoquímica dos órgãos vegetativos de *H. courbaril*, visando histolocalizar as estruturas secretoras e/ou células secretoras que armazenam metabólitos secundários, cujas atribuições conferem potencial medicinal. A coleta do material vegetal foi realizada em indivíduos nativos de *H. courbaril* no município de Alta Floresta, MT, em propriedades particulares. O material botânico (folíolos e caule) foi fixado e realizou-se secções transversais e paradérmicas nos órgãos, obtidos à mão livre, com auxílio de lâmina de barbear, duplamente corados (Azul de Astra e Fucsina Básica) e montadas em lâminas histológicas. O material fresco foi submetido aos testes histoquímicos, vanilina clorídrica, tricloreto de antimônio, cloreto de ferro III 10%, ácido tânico/cloreto de ferro III 3%, sudão IV, lugol e ácido sulfúrico. Os testes fitoquímico foram submetidos aos testes de saponinas, taninos, alcalóides, flavonóides, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, esteróides e terpenos. Os folíolos e frutos apresentam glândulas resiníferas, caule e folíolos apresentam cavidades secretoras. Por meio dos testes histoquímicos e fitoquímicos detectou-se a presença de taninos, flavonoides, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, saponinas, óleos essenciais, lipídios, mucilagens, terpenoides e esteroides. Diante das análises morfoanatômicas e fito-histoquímicas foi possível confirmar a presença de metabólitos secundários nos canais secretores do caule e dos folíolos.

Palavras-chave: Cavidade secretora, Jatobá, medicinal.

Abstract - (Morpho-anatomical, Phytochemical, and Histochemical characterization of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae), occurring in Southern Amazon). Brazil is one of the countries with the largest diversity of fauna and flora with a predominance of species with economic and medical interest. Within this diversity is *Hymenaea courbaril*, a plant belonging to the family Leguminosae, popularly known in Brazil as 'Jatobá', it is used in popular medicine. The objective of this study was to characterize the morpho-anatomy, histochemistry, and phytochemistry of vegetative organs of *H. courbaril* aiming to histolocalize the secretory structures and/or secretory cells that have reservations of secondary metabolites whose attributes provide medicinal potential. The vegetable material was collected from native *H. courbaril* individuals in Alta Floresta-MT, in private farms. The botanical material (leaflets and stem) was fixed. Transverse and paradermal sections were made in the organs. They were obtained by hand, using a razor blade. Subsequently, they were doubly stained (Astra Blue and Basic Fuchsin) and mounted on histological slides. The fresh material was submitted to histochemical tests, vanillin-HCl, antimony trichloride, 10% ferric chloride III, tannic acid/3% ferric chloride III, sudan IV, lugol's solution and sulfuric acid. The phytochemical study was submitted to saponins, tannins, alkaloids, flavonoids, cardiotonic glycosides, anthraquinones, steroids and terpenes tests. The leaflets and fruits showed resin glands and stem and leaflets showed secretory cavities. The histochemical and phytochemical tests showed presence of tannins, flavonoids, cardiotonic glycosides, anthraquinones, saponins, essential oils, lipids, mucilages, terpenoids and steroids. Through morpho-anatomic and plant-histochemical analyses was possible to confirm the presence of secondary metabolites in the secretory canals of stem and leaflets.

Key words: Jatobá, medicinal, secretory cavity.

Introdução

O Brasil é um país que detém de 10% a 20% das espécies descritas no planeta, bem como cerca de 30% das florestas tropicais do mundo (LEWINSOHN e PRADO, 2002). Esta diversidade é utilizada pelas populações tradicionais na cura de muitas enfermidades, sendo que tais plantas trazem um conhecimento popular associado quanto a sua forma de utilização (RODRIGUES, 2006).

Grande parte da diversidade Amazônica ainda não foi estudada, ou permanece sem estudos, tendo em vista que muitas das espécies possuem potencial para ser exploradas no desenvolvimento de fitoterápicos (VÁSQUEZ, 2014).

Balunas e Kinghorn (2005) relatam que 48% dos medicamentos atualmente utilizados na terapia advêm de produtos naturais, especialmente de plantas. Diante disso, verifica-se a busca por mecanismos alternativos para o tratamento, cura e prevenção de diversas doenças, em detrimento dos custos que muitos terapêuticos químicos apresentam ao consumidor, bem como em virtude da distância de determinados povoados dos centros comerciais (ROQUE, 2010). Assim, a maioria das plantas medicinais é utilizada com base no conhecimento popular, carecendo de estudos farmacológicos e toxicológicos, além da identificação dos compostos responsáveis por tais atividades (MACIEL et al., 2002).

São várias as utilidades dos produtos naturais, sejam como suplementos na alimentação, intermediários usados nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos (MOTANARI e BOLZANI, 2001), ou ainda, utilizados *in natura*, sendo as plantas consideradas uma das principais fontes de compostos biologicamente ativos. No decorrer dos anos, o estudo destes produtos tem contribuído para o desenvolvimento de diversos fármacos com importantes aplicações terapêuticas e muitos utilizados na medicina moderna, onde grande parte são derivados direta ou indiretamente de plantas superiores (CRAGG e NEWMAN, 2013).

Ao se realizar trabalho com fitoterápicos um dos principais cuidados é a correta identificação da espécie vegetal que será manipulada na elaboração do produto (ALBIERO et al., 2008). Neste sentido trabalhos que forneçam estas informações são de grande importância. A análise estrutural da espécie é uma das primeiras ferramentas utilizadas na identificação das estruturas anatômicas responsáveis pela produção destas substâncias (SILVA, 2008).

Através da fitoquímica é possível a confirmação química de metabólitos de interesse popular, por este método é possível conhecer e avaliar a presença dos compostos químicos, identificando grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES et al., 2004; MATOS, 1997).

A família Faboideae pertencente à ordem Fabales, é considerada a terceira maior família de angiospermas do mundo, com 727 gêneros e 19.325 espécies, distribuídas em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (LEWIS et al., 2005; APG III, 2009). No Brasil, ocorrem 222 gêneros e 2.807 espécies, considerada a principal família do país em número de espécies (LIMA et al., 2016). Dentre os gêneros pertencentes a Fabaceae encontra-se *Hymenaea* que possui cerca de 15 espécies, com ampla distribuição em regiões tropicais (LIMA e Pinto 2016).

Dentre as espécies do gênero está *Hymenaea courbaril* L. (Jatobá) sendo esta uma espécie arbórea tropical, hermafrodita, polinizada por mariposas e morcegos e amplamente distribuída nos trópicos (MELO-SILVA et al., 2014). Apresenta uso expressivo na medicina popular, sendo muito utilizado para combater problemas respiratórios e urinários, como expectorante, no estímulo do apetite, além de seus frutos servir como fonte de alimento para a fauna (BATISTA et al. 2011), também é utilizado na indústria madeireira, farmacológica e alimentícia (LORENZI e MATOS, 2008).

Objetivou neste trabalho caracterizar a morfoanatomia, a histoquímica e fitoquímica dos órgãos vegetativos de *H. courbaril*, visando histolocalizar as estruturas secretoras e/ou células secretoras que armazenam metabólitos secundários, cujas atribuições conferem potencial medicinal, além de verificar seu papel no desenvolvimento e sobrevivência da espécie.

Material e Métodos

Área de Estudo

O município de Alta Floresta encontra-se distante da capital Cuiabá 830 km, com uma estimativa populacional do ano de 2015 de 49.991 habitantes (IBGE, 2015). A vegetação é constituída pelas Florestas Ombrófilas Abertas e Densa, Florestas Estacionais e Formações Secundárias (BRASIL, 2007), do Bioma Amazônico (IBGE, 2015). Apresenta um clima equatorial continental úmido com estação seca definida da depressão sul-amazônica, com temperatura média anual entre 24,3 e 24,8°C. O volume de precipitação pluviométrica é elevado ficando entre 2000 e 2300 mm (SEPLAN 2006). O relevo é formado pelo Planalto Apicás-Sucurundi e a Depressão Interplanáltica Amazônia Meridional (ROSS, 2005).

A coleta do material vegetal foi realizada em indivíduos nativos de *Hymenaea courbaril* em uma propriedade particular do Sr. Valtair Urio (9°57'51.6"S 56°06'35.3"W) no município de Alta Floresta, MT em 2015. Os indivíduos estão em uma área de conservação de vegetação nativa próximo a uma nascente de água da propriedade. A planta possui 2,2 m de circunferência a altura do peito e altura de 14 metros de altura.

Morfoanatomia

Amostras de caule e folíolos de *H. courbaril* foram levadas ao HERBAM (Herbário da Amazônia Meridional - UNEMAT), onde passou pelo processo de herborização utilizando-se técnicas usuais (FIDALGO & BONONI, 1984 e 1989). Posteriormente foi identificado e está em processo de deposição no HERBAM sobre o número de registro 11694. Foram utilizadas bibliografias especializadas para a diagnose do material realizado no HERBAM (BARROSO et al. 1999; RADFORD et al., 1974). Parte do material biológico caule e folíolos foi analisada no Laboratório de Biologia Vegetal, da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus II*, de Alta Floresta/MT, onde passou pelo processo de fixação em FAA₅₀ e foi estocado em etanol 70% (JOHANSEN, 1940).

Para a análise anatômica foi escolhida a região mediana dos folíolos que compõem a folha da planta e a porção mediana do caule jovem, onde realizou-se secções transversais e longitudinais à mão livre, com o auxílio de lâminas de

barbear. Os cortes foram corados com azul de Astra e fucsina básica (ROESER, 1962) e montadas em lâminas histológicas semipermanentes com gelatina glicerinada (KAISER, 1880).

Para análise da epiderme foliar foram feitas secções paradérmicas na superfície adaxial e abaxial, sendo ainda dissociadas pelo método de Jeffrey (KRAUS e ARDUIM, 1997) modificado. Para isso, foram armazenadas porções foliares nas dimensões de 1 cm² em microtubos com peróxido de hidrogênio (volume 30) e ácido acético glacial na proporção de 1:1 e mantidas em estufa a 60 °C por 48 horas. As lâminas foram analisadas em fotomicroscópio Leica ICC50 acoplado a um computador e analisadas no *software* LAZ EZ versão 1.7.0. Após caracterização anatômica dos indivíduos estudados foram elaboradas pranchas confeccionadas com as fotomicrografias.

Testes histoquímicos

Secções histológicas dos materiais vegetais frescos (caule e folíolos) foram obtidas a mão livre com auxílio de lâmina de barbear. Os cortes foram submetidos a testes histoquímicos com Lugol para a identificação de amido (JOHANSEN, 1940), Sudan IV (PEARSE, 1980) para compostos lipídicos totais, reagente de NADI (DAVID e CARD, 1964) para óleos essenciais, Vanilina clorídrica (MACE e HOWELL, 1974) para taninos, Cloreto férrico III (JOHANSEN, 1940) para compostos fenólicos e reagente de Dragendorff (SVENDSEN e VERPOORTE, 1983), para alcalóides. O teste com Ácido tânico (PIZZOLATO e LILLIE, 1973) foram para a identificação de mucilagem, Tricloreto de antimônio (HARDMAN e SOFOWORA, 1972) para detecção de esteróides, 2-4-Dinitrofenilhidrazina (GANter e JOLLÉS, 1970) para terpenóides e Ácido Sulfúrico (GEISSMAN e GRIFFIN, 1971) para identificação de lactonas sesquiterpénicas.

Testes controle foram realizados simultaneamente, de acordo com as recomendações dos respectivos autores para cada teste citado e para auxiliar na aplicação dos testes utilizou-se como bibliografias de base Ventrella et al., (2013) e Ascensão (2004).

Os resultados foram documentados por meio de fotomicroscópio Leica ICC50 acoplado a um computador e analisadas no *software* LAZ EZ versão 1.7.0,

sendo posteriormente confeccionadas pranchas a partir das fotomicrografias de aspectos gerais da espécie e dos testes que resultaram positivamente.

Prospecção fitoquímica

Para realização do estudo fitoquímico, o material vegetal (caule e folíolos) foi conduzido ao Laboratório de Biologia Vegetal da Universidade do Estado de Mato Grosso/AF, onde foi lavado com água destilada e posteriormente devidamente identificado, pesado a massa fresca, obtendo 150g de cada órgão (caule e folíolos). Na sequência o material foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar em uma temperatura de 40°C, por 72 horas.

Posteriormente, o material foi novamente pesado para cálculo do rendimento de massa seca, sendo utilizado 30g de cada órgão (caule e folha). Após este procedimento o material foi pulverizado em moinho tipo Willey e obtido o rendimento do material vegetal pulverizado (20g de cada órgão). O material vegetal pulverizado foi acondicionado em sacos de papel e conservado em geladeira (6 a 10°C).

Os testes fitoquímicos foram realizados no laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Universidade Estadual de Montes Claros/MG. A metodologia adotada foi de acordo com Mouco et al. (2003), Lima et al. (2009), Rodrigues et al. (2009) e Silva et al. (2010) com modificações para antraquinônicos, cardiotônicos e alcaloides.

Para as detecções foram realizadas as reações: a) taninos: cloreto férrico 2%, solução aquosa de alcaloides, acetato neutro de chumbo 10%, solução de acetato de cobre 5%, acetato de chumbo 10% e ácido acético glacial 10% e gelatina 2%; b) alcaloides: os reagentes de Borchardt, de Bertrand, de Mayer e de Dragendorff, modificado, sendo as reações realizadas em tubo de ensaio; c) flavonoides: as reações de Shinoda, cloreto de alumínio 5%, cloreto férrico e hidróxido de sódio; d) saponinas: o teste de espuma 15 minutos. e) antraquinonas: reações de Borntræger e hidróxido de sódio. Foi pesado 1g do material estudado, adicionando-se 20 mL de etanol 75%; então, aqueceu-se por dois minutos em banho-maria e foi filtrado. Ao resultante da filtração adicionou-se 10 mL de ácido

clorídrico 10% e levado ao funil de separação, sendo adicionado 5 mL de clorofórmio e extraída a fase orgânica, que foi levada ao tubo de ensaio e adicionada de uma a duas gotas de hidróxido de sódio; f) glicosídeos cardiotônicos: reações de Liebermann-Burchard e de Keller-Killiani, modificado, onde foram pesados 2g do produto adicionando 20 mL de etanol 70%, sendo aquecido por dois minutos em banho-maria e posteriormente filtrado. Ao resultante da filtragem adicionou-se 20 mL água destilada, sendo levado ao funil de separação, adicionado 16 mL de clorofórmio e extraída a fase orgânica; g) esteroides e terpenoides: reação de Liebermann-Burchard.

Resultados

Morfologia

Hymenaea courbaril L., Sp. Pl. 2: 1192. 1753.

Nomes populares: Jatobá, Jatobá-mirim, jutaí, jutaí açu, jutaí bravo, jutaí grande, jataí peba, jataí uba, jataí uva, jataíba, jataúba, jatioba, jatiuba e jupati (Figura 1A-H).

Árvores, 8-10 m de alt.; ramos jovens tomentosos a esparsamente tomentosos. Estípulas 1,2-1,5 cm compr.; lanceoladas, caducas. Folhas alternas, compostas, bifoliadas, nectários extraflorais ausentes; pecíolo 1-2 cm compr.; glabro; folíolos 7,2-10,5 x 2,7-4 cm, estreitamente ovados a oblongos, falcados, ápice acuminado a agudo, base oblíqua, faces adaxial e abaxial glabras, glândulas resiníferas presentes, margem inteira. Inflorescências paniculadas, terminais; raque 4-7,5 cm compr., tomentosa; brácteas caducas. Flores grandes, hipanto 5-6 mm compr., campanulado; cálice 4-mera, dialissépalo, 0,8-1,1 cm compr., sépalas ovadas, densamente lanosas externamente; corola 5-mera, dialissépala, 0,7-0,9 cm compr., pétalas ovadas a elípticas, glabras externamente; androceu dialistêmone, homodínamo, 10 estames, filetes 1-1,5 cm compr., anteras 4 mm compr.; gineceu estipitado, estípite 2-3 mm compr., incluso no hipanto, ovário súpero, 5-6 mm compr., glabro, estilete 1,5-2 cm compr., estigma capitado. Legume nucóide 6-9,5x3-3,8 cm, estreitamente oblongos, transversalmente semicirculares, marrons, glândulas resiníferas presentes externamente, base e ápice arredondados, raramente truncados; sementes 1,6-2,6x1,2-2 cm, circulares, marrons, arilo farináceo, pleurograma ausente.

Material examinado: BRASIL. MATO GROSSO: **Alta Floresta**, 10°21'23" S, 56°58'58" W, 04/VI/2014, fr., *Soares-Lopes, C.R.A. et al. 7565* (HERBAM). Comunidade São Bento, 1ª Sul, beira da estrada, 29/X/2015, fl., *Fernandes, J.M. 1520* (HERBAM), 15/XII/2015, fl., *Fernandes, J.M. 1521* (HERBAM). Comunidade Central, Zona Rural, 09/X/2014, fr., *Tiago P. V. 001* (HERBAM). **Paranaíta**, 28/II/2012, fr., *Soares-Lopes, C.R.A. et al. 5394* (HERBAM).



Figura 1A-H: *Hymenaea courbaril*: A) ramo jovem com folhas e inflorescência; B) Botão floral; C) Flor aberta; D) Foliolo; E) Estame; F) Carpel; G) Fruto; H) Detalhe dos pontos resiníferos.

Anatomia do caule

A epiderme caulinar é uniestratificada, justaposta, com células de formato arredondado, de parede espessa (Figuras 2A, B). Os feixes vasculares são colaterais, com região cambial definida, em formato de arco e rodeados de fibras vasculares (Figura 2A, B). Ao centro observa-se presença de medula parenquimática com presença de cavidade secretora (Figura 2A, B).

O córtex é composto por células parenquimáticas de preenchimento, com células arredondadas, de tamanhos variados, com pequenos espaços intercelulares e com presença de sílica (Figuras 2A, B, C, D).

Tricomas tectores recobrem toda a superfície epidérmica do caule (Figuras 2E). Abaixo da epiderme, nota-se o estabelecimento do felogênio em vários estágios de desenvolvimento, conferindo neste caso o, crescimento secundário ao caule (Figura 2 E).

É também no córtex que estão concentrados as cavidades secretoras, compostas por um epitélio celular com 18 a 20 células (Figura 2F).

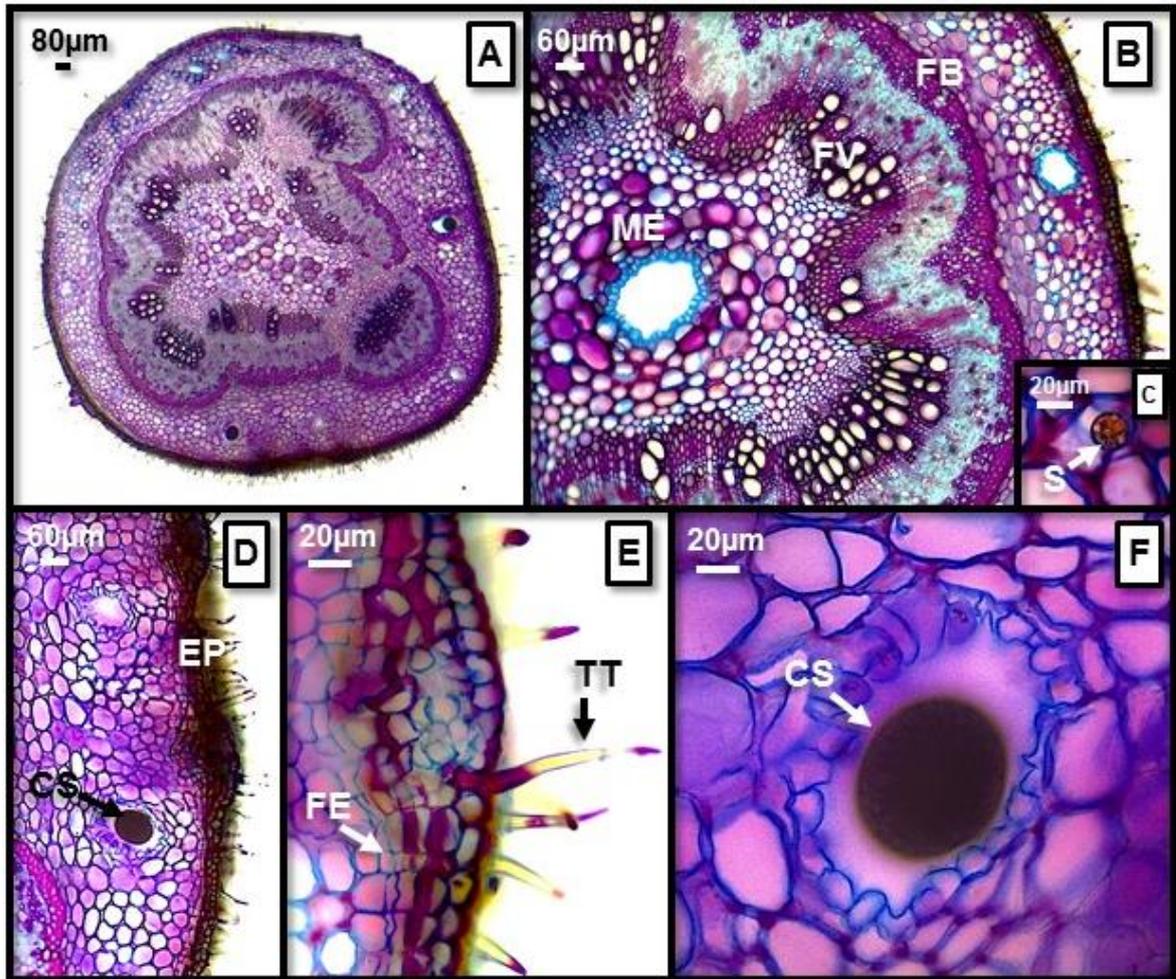


FIGURA 2A-F. Anatomia do caule de *Hymenaea courbaril* em secções transversais. A- Aspecto geral do caule. B- Epiderme, córtex, feixe vascular e medula. C- Detalhe da sílica no parênquima. D- Aspecto do córtex. E- Detalhe da epiderme e tricomas. F- Detalhe do canal de secreção. ME: Medula; FV: Feixe Vascular; FB: Feixe de Fibra; S: Sílica; CS: Cavidade secretora; EP: Epiderme; FE: Felogênio; TT: Tricoma Tector.

Anatomia do Folíolo

Os folíolos de *H. courbaril* são hipoestomáticos, apresentando estômatos do tipo paracítico. Em vista frontal as células epidérmicas são de paredes sinuosas e espessas em ambas as faces foliares (Figura 3A, B). Os feixes vasculares são colaterais, circundado por fibras (Figuras 3C). Na região da nervura principal os feixes de fibras são maiores, apresentando grande quantidade de elementos de condução (Figura 3D).

A epiderme é uniestratificada de formato irregular com as paredes e cutículas espessadas (Figura 3D). O mesófilo foliar é dorsiventral, sendo composto

de 2-4 camadas de parênquima paliçádico e 1-2 de parênquima lacunoso (Figura 3D).

As células da face adaxial são maiores que as da face abaxial (Figuras 3D). Foi constatada a presença de cavidades secretoras do tipo lisígena esparsos no mesofilo (Figuras 3E). Na região da nervura principal abaixo da face epidérmica abaxial, observa-se a presença de braquiesclereídes (Figura 3F).

Em secção transversal, verifica-se que os estômatos estão situados no mesmo nível das demais células epidérmicas e com câmara subestomática desenvolvida (Figuras 3G).

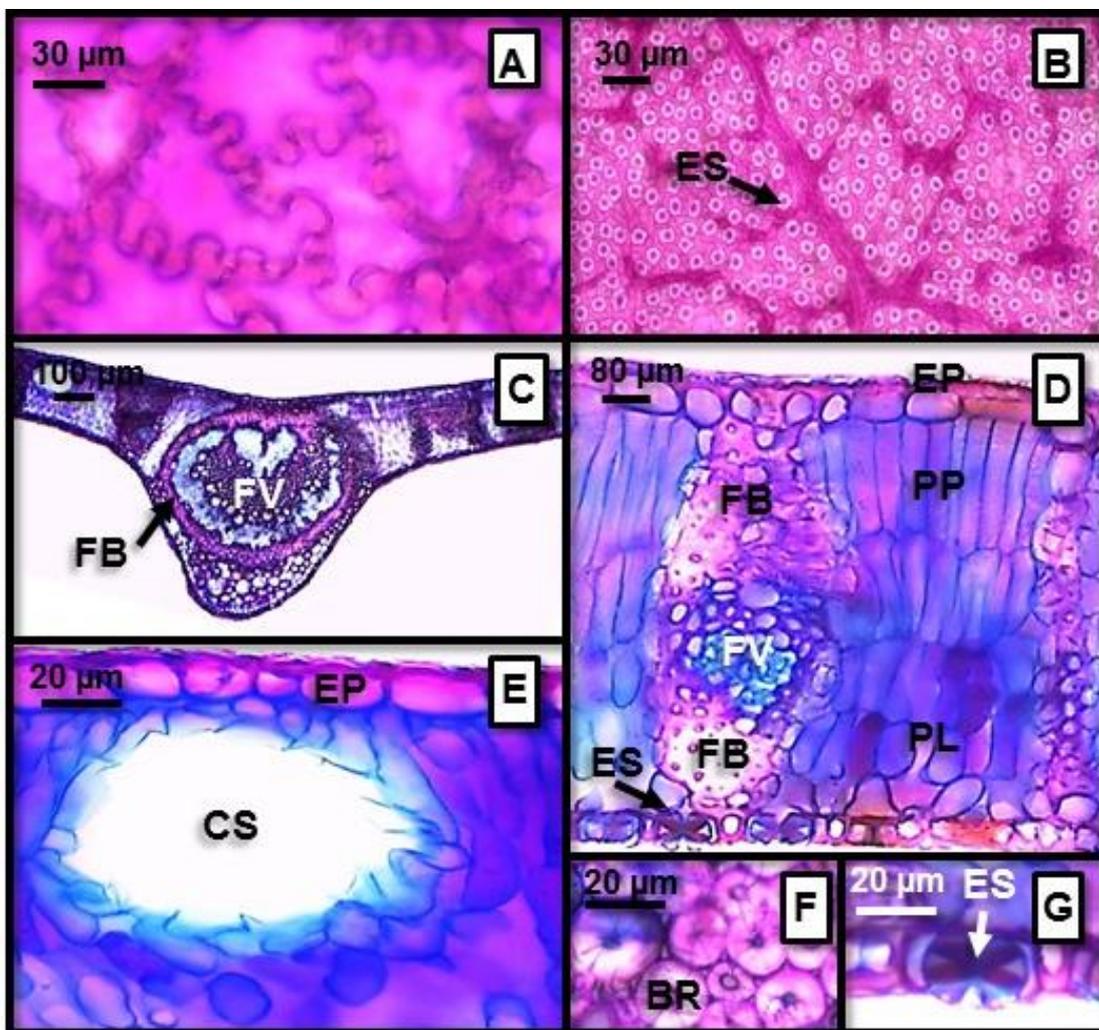


FIGURA 3A-G. Anatomia da folha de *Hymenaea courbaril* em secções transversais e paradérmicas. A- Face adaxial. B- Face abaxial com a disposição geral dos estômatos. C- Aspecto geral da nervura principal. D- Aspecto do mesofilo foliar. E- Canais de secreção. F- Detalhe dos braquiesclereídes. G- Estômato em secção transversal. FV: Feixe Vascular; FB: Feixe de Fibra; CS: Cavidade secretora; EP: Epiderme; PP: Parênquima Paliçádico; PL: Parênquima Lacunoso; BR: Braquiesclereídeo; ES: Estômato.

Histoquímica

O teste histoquímico com Vanilina revelou a presença de taninos nas células parenquimáticas próximas aos canais secretores no caule e nos folíolos (Figuras 4A, B). O reagente de NADI detectou óleos essenciais nos canais de secreção em ambos os órgãos (Figuras 4C, D).

O Sudan IV foi positivo para o teste de lipídeos no interior das cavidades secretoras do caule e nos folíolos apresentou-se nas células do epitélio da cavidade (Figuras 4E, F).

O teste com o reagente Tricloreto de Antimônio constatou a presença de esteróides apenas na cavidade secretora dos folíolos (Figura 4G). O teste com Ácido sulfúrico revelou a presença de Lactonas sesquiterpênicas nos folíolos, sendo negativo para o caule (Figura 4H). A partir da reação com 2,4 – Dinitrofenilhidrazina detectou-se terpenóides nas cavidades secretoras em ambos os órgãos analisados (Figuras 4I, J).

O Cloreto de ferro III 10% detectou a presença de mucilagens em ambos os órgãos (Figuras 4K, L).

Os testes Lugol, Dragendorff, Ácido tânico e Cloreto de ferro III 3% para detecção de amido, alcaloides e compostos fenólicos, foram negativos em ambos os órgãos estudados.

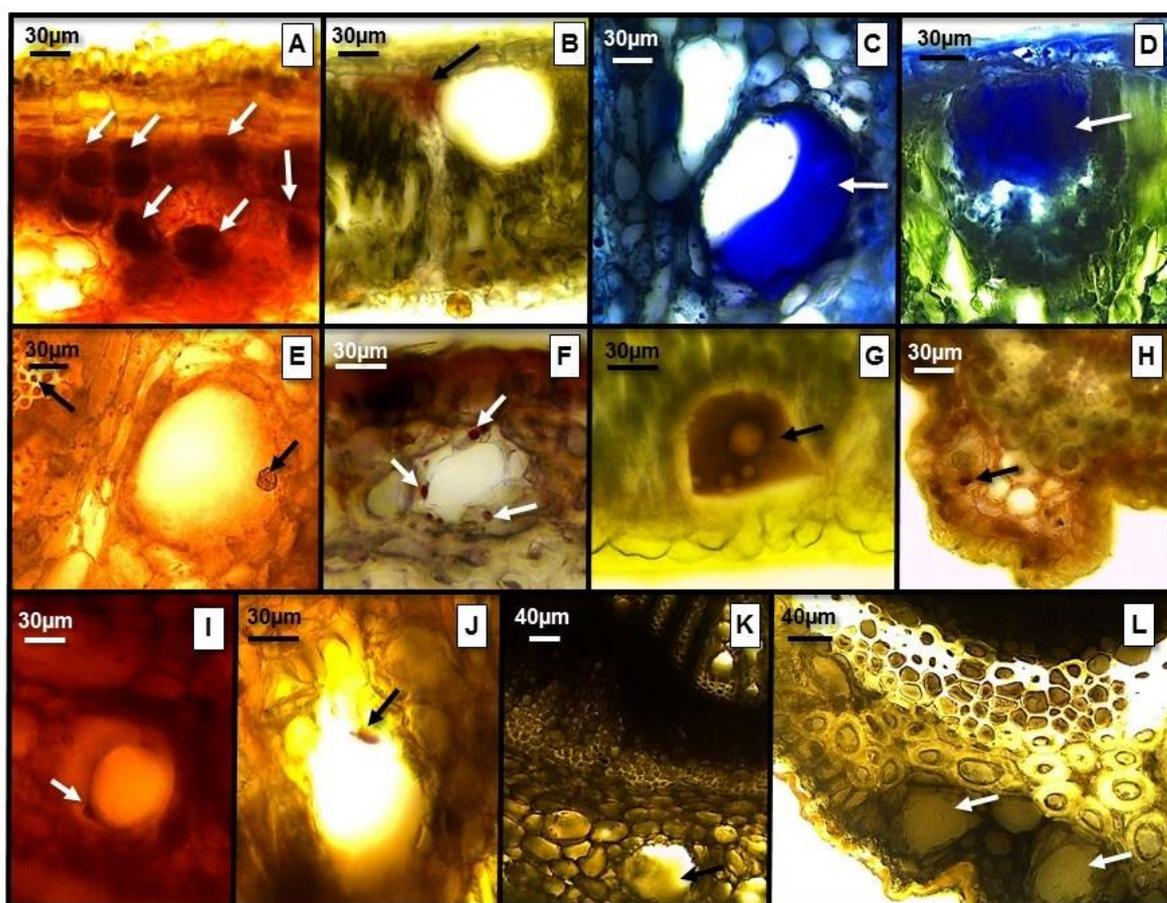


FIGURA 4A-L. Secções transversais do caule e folha de *Hymenaea courbaril*, evidenciando os testes histoquímicos positivos indicados pelas setas. A- Vanilina no caule; B- Vanilina na folha; C- Reagente de NADI no caule; D- Reagente de NADI na folha; E- Sudan IV no caule; F- Sudan IV na folha; G- Tricloreto de Antimônio na folha; H- Ácido sulfúrico na folha; I- 2,4 – Dinitrofenilhidrazina no caule; J- 2,4 – Dinitrofenilhidrazina na folha; K- Cloreto de ferro III 10% no caule; L- Cloreto de ferro III 10% na folha.

Fitoquímica

As análises fitoquímicas foram positivas para a identificação de taninos no caule e folíolos de *H. courbaril* (Tabela 1) de acordo com as reações, cloreto férrico 2%, Acetato de cobre 5%, e acetato neutro de chumbo 10%, exceto ácido acético glacial 10%.

Na identificação de flavonóides, o teste magnésio e ácido clorídrico foi negativo no caule e positivo no folíolo. Cloreto férrico 2%, Cloreto de alumínio 5% e Hidróxido de sódio 5% reagiu positivamente para os órgãos em estudo.

Os testes com Reativo de Bortranger, Hidróxido de sódio 0,5% para Glicosídeos antraquinônicos e o teste de espuma para detecção de saponinas foram

positivos para a espécie no caule e nos folíolos. Os Glicosídeos cardiotônicos não foram detectados no caule e nos folíolos com a reação de Lieberman-Burchard, já para reação de Keller-Kiliani, o resultado foi positivo em ambos os órgãos estudados.

Terpenos e esteróides estão presentes apenas nas folhas detectados pelo teste de Lieberman-Burchard. Nos testes de Mayer, Bouchardat, Bertrand e Dragendorff para detectar alcaloides apresentaram reações negativas tanto no caule quanto nos folíolos.

TABELA 1. Caracterização fitoquímica do caule e folíolo de *Hymenaea courbaril*.

Metabólito secundário	Reativo/ Teste	Caule	Folíolos
Taninos	Cloreto férrico 2%	+++	+++
	Acetato neutro de chumbo 10%	++	+++
	Acetato de cobre 5%	++	++
	Ácido acético glacial 10%	-	++
Flavonóides	Magnésio + ácido clorídrico	+++	-
	Cloreto férrico 2%	+++	++
	Cloreto de alumínio 5%	+	+
	Hidróxido de sódio 5%	++	+
Glicosídeos antraquinônicos	Reativo de Bortranger	+(a)	+(v)
	Hidróxido de sódio 0,5%	+(a)	++(a)
Saponinas	Teste da espuma	+	+++
Glicosídeos Cardiotônicos	Lieberman-Burchard	-	-
	Keller-Kiliani	+++	+
Terpenóides/Esteróides	Lieberman-Burchard	-	++
Alcalóides	Mayer	-	-
	Bouchardat	-	-
	Bertrand	-	-
	Dragendorff	-	-

a - coloração amarela: antraquinona reduzida; v - coloração vermelha: antraquinona oxidada; (+++) Forte; (++) Moderado; (+) Fraco; (-) Negativo.

Discussão

A partir dos órgãos vegetativos analisados verificou-se que as estruturas de secreção de *Hymenaea courbaril* são canais de secreção, distribuídas no caule e no folíolo. Cutter (1986) relata que, células de secreção aparecem em diferentes partes da planta e tipos particulares de estruturas de secreção são, às vezes, características de certas famílias. Para a família Leguminosae a presença de canais de secreção que apresentam compostos secundários é considerada caracteres de cunho quimiotaxonomicos (ESAU, 1976; BESSA et al., 2013). A existência destes compostos, também é fundamental como mecanismo de defesa e sobrevivência de plantas pertencentes a esta família (OLIVEIRA et al., 2011).

Além disso, a indústria farmacêutica tem na localização de metabólitos nos tecidos e/ou determinadas células vegetais uma ferramenta fundamental no auxílio na indicação da melhor parte do vegetal a ser utilizada nas terapias, bem como, uma estratégia de redução de gasto e tempo na elaboração de futuros medicamentos (SILVA, 2008).

A presença de compostos como flavonóides confere atividade antimicrobiana a *H. courbaril* (GONÇALVES et al., 2005). Bessa et al., (2013) ressaltam que a presença dos flavonóides combinado com taninos indica atividade anti-inflamatória (BESSA et al., 2013).

Os taninos, geralmente se localizam em órgãos específicos da planta como nas folhas, frutos ou caules (ROBERTS et al., 1997). Uma das principais características da presença de taninos nesta espécie é seu efeito adstringente, sendo esta atividade biológica fundamental no tratamento de doenças do trato digestivo conforme descrito por Bessa et al. (2013) para outras espécies. Taninos quando associados a proteínas promovem a defesa das plantas contra ataque de insetos, fungos e bactérias (VALENTIM, 2006).

Os óleos essenciais podem ser extraídos de frutos, folhas e resina (PANIZZA, 1997; PINTO et al., 2000). Folhas, casca, resina e frutos de jatobá possuem compostos que tem ação antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, larvicida e moluscocida (GONÇALVES et al., 2011; CECÍLIO et al., 2012). Quanto a atividade larvicida de *H. courbaril*, Aguiar et al., (2010) ao testarem em diferentes concentrações de óleos essenciais extraídos dos frutos verdes e maduros, constataram forte atividade biológica no controle de larvas do mosquito

Aedes aegypti, corroborando com os testes histoquímicos realizados com ambos os órgãos estudados neste trabalho. Tornando-se uma opção para o controle deste mosquito que transmite dengue, chikungunya e zika.

Já os lipídios, constituinte da membrana celular, pode auxiliar na prevenção de perda de água excessiva, bem como na resistência a doença (MENEZES et al., 2003; TAIZ e ZEIGER, 2004). Vale ressaltar que o resultado de presença dos lipídios detectados em *H. courbaril* corroboram com o trabalho de Silva et al., (2012) que estudou anatomia dos órgãos vegetativos de *Hymenaea martiana* Hayne, espécie de uso medicinal em Caetité-BA, demonstrando assim que este metabólito é compartilhado por outras espécies do gênero.

A presença de esteróides e terpenos nos órgãos estudados confere a esta espécie ação antiespasmódica, anti-inflamatória, antiparasitária e antihepatotóxica (NOGUEIRA et al., 2001; DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2002; CHAGAS-DE-PAULA, 2010).

A presença de lactonas sesquiterpênicas que é relatada em *H. courbaril* é apontada como sendo supressores de apetite em larvas e insetos (TINCUSI et al, 1998). Tais produtos depois de ingerido, promove a redução do crescimento, e aumenta o número de dias da pupa, reduzindo assim o peso da pupa e/ou a sobrevivência de besouros (PICMAN, 1986; HARBORNE, 1993).

Estudos fitoquímicos de perfil medicinal realizados com as cascas dos frutos de *H. courbaril* apontaram a presença de sesquiterpenos, assim como detectados no caule e folíolos neste estudo, novamente confirmando seu potencial medicamentoso no tratamento de doenças de origem cancerígena, asmática, inflamatória, microbiana e fúngica (VALE, 2012).

Ao traçar o perfil fitoquímico de *H. courbaril* Bezerra (2013), considerou a presença de glicosídeos antraquinônicos para seu caule. As análises realizadas neste estudo além de corroborar com Bezerra, (2013), também apontam sua presença nos folíolos desta espécie. Além disso, notou-se também a presença de glicosídeos cardiotônicos nos folíolos. Estas substâncias possuem potencial de uso no tratamento de doenças cardíacas (Vickery e Vickery, 1981). Foglio et al. (2006) atribuíram aos glicosídeos cardiotônicos atividade medicinal sob o tecido do músculo cardíaco.

Plantas que possuem metabólitos secundários como flavonóides, terpenos, saponinas e óleos essenciais tem efeito hepatoprotetor, tais características corrobora com o que se é relatado pela medicina popular, que justifica sua utilização por ser hepatoprotetora (BORELLA et al., 2006). Compostos secundários desempenham funções de proteção ou de sinalização bioquímica (BERNARDS, 2010). Além de contribuir como medicamento, segundo Kaufman et al. (1998), tais substâncias encontradas em *H. courbaril* desempenham um importante papel ecológico como estratégias reprodutivas e de defesa contra herbivoria.

Conclusões

As estruturas secretoras de *Hymenaea courbaril* são os canais de secreção em ambos os órgãos estudados.

A caracterização fito-histoquímica confirmou a presença de metabólitos secundários como taninos, esteroides, flavonoides, compostos fenólicos, lipídios, saponinas e glicosídeos. A presença destes compostos pode conferir a *Hymenaea courbaril* atividades biológicas importantes no tratamento de doenças inflamatórias, microbianas, fúngicas, parasitárias e digestivas. Além disso, tais substâncias desempenham um importante papel ecológico de manutenção e continuidade da espécie na natureza.

Referências Bibliográficas

AGUIAR, J. C.; SANTIAGO, G. M. P.; LAVOR, P. L.; VERAS, H. N.; FERREIRA, Y. S.; LIMA, M. A.; ARRIAGA, A. M.; LEMOS, T. L.; LIMA, J. Q.; JESUS, H. C.; ALVES P. B.; BRAZ-FILHO R. Chemical constituents and larvicidal activity of *Hymenaea courbaril* fruit peel. **Natural Product Communication**, Ohio, v. 5, n.12, p. 1977-1980, 2010.

ALBIERO, A. L. M.; BACCHI, E. M.; MOURÃO, K. S. M. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 23, p. 549-560, 2008.

ASCENSÃO, L. **Métodos Histoquímicos em vegetais**. Viçosa: UFV, 2004.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 61, p. 105–121, 2009.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, D. Drug Discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, p. 431-41, 2005.

BARREIRO, E. J. Strategy of molecular simplification in rational drug design: the discovery of a new cardioactive agent. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1172-1180, 2002.

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L .F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Editora UFV, Viçosa, 1999.

BERNARDS, M. A. Plant natural products: a primer The present review is one in the special series of reviews on animal-plant interactions. **Canadian Journal of Zoology**, v. 88, n. 7, p. 601-614, 2010.

BESSA, N. G. F.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; ALVES, A. Preliminary phytochemical screening of native Cerrado plants of medicinal popular use by the rural community of the Vale Verde settlement-Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

BEZERRA, G. P. **ESTUDO FARMACOQUÍMICO BIOGUIADO PELA ATIVIDADE MIORRELAXANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DAS CASCAS DO CAULE DE *Hymenaea courbaril* L. (JATOBÁ)**. 2013. 129F. (Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

BORELLA, J. C.; DUARTE, D. P.; NOVARETTI, A. A. G.; MENEZES JR., A.; FRANÇA, S. C.; RUFATO, C. B.; SANTOS, P. A. S.; VENEZIANI, R. C.S.; LOPES, N. P. Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n. 4, p. 557-561, 2006.

BOYLE, T.; EL-KASSABY, Y. A.; PALMBERG-LERCHE, C.; ERIKSSON, G.; GREGORIUS, H. R.; JOLY, H.; YOUNG, A. **Criteria and indicators for sustainable forest management: assessment and monitoring of genetic variation**. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Forestry Department, 2002.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: Estrutura e Função de Órgãos Vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234p.

CECÍLIO, A. B.; FARIA, D. B., CARVALHO OLIVEIRA, P., CALDAS, S., OLIVEIRA, D. A., SOBRAL, M. E. G., ALMEIDA, V. L. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. **Journal of ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 975-981, 2012.

CHAGAS-DE-PAULA, D. A. **Atividade anti-inflamatória e fitoquímica do chá e de diferentes extratos de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae)**. 2010. 116 f. (Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads (1830 ed., Vol. 6). **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**.

CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal**. Parte I: Células e tecidos. 2ª Ed. Rocca. São Paulo-SP. 1986.

DAVID, R.; CARDÈ, R. J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpéniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du réactif nadi. Paris: Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. **Serie Iii-Sciences de la vie-life Sciences**, Paris, v. 258, p. 1338-1340. 1964.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2ª ed. São Paulo: UNESP, 2002.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blucher, 1976.

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

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. D. O.; RODRIGUES, R. A F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: Um modelo multidisciplinar. **Multiciências**, v. 7, p. 1-8, 2006.

BONONI, V. L. R.; FIDALGO, O. Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. **São Paulo: Instituto de Botânica**, v. 1, p. 62, 1984.

GANTER, P.; JOLLÉS, G. **Histologie normale et pathologique**. v. 1 e 2, Paris: Gauthier, 1970.

GEISSMAN, T. A.; GRIFFIN, T. S. Sesquiterpen lactones: Acid-catalized color reactions as an in structure determination. **Phytochemistry**, [S.l.], n. 10, p. 2475-2485, 1971.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Efeitos Antimicrobianos de Algumas Plantas Medicinais Brasileiras em Distúrbios Intestinais. **Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 2, 2011.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Instituto Biológico**, São Paulo. v.72, n.3, p.353-358, 2005.

HARBORNE, J. B. Advances in chemical ecology. **Natural Product Reports**, v. 10, n. 4, p. 327-348, 1993.

HARDMAN, R. E.; SOFOWORA, E. A. Antimony trichloride as test reagentes for steroids, especially diogenin and yamogenin, in plant tissues. **Stain Technol** [S.l.], n. 47, p. 205-208, 1972.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia Estatística**. IBGE. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=510025>>. Acesso em: 11 de jan. de 2016.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. MacGraw-Hill Book Company, New York. 1940.

KAISER, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. **Botanisch zentralb.** p. 25-26. 1880.

KAUFMAN P. B.; CSEKE, L. J.; DUKE, J. A. BRIELMANN, H. L. **Natural products from plants**. London New York: CRC Press. p.632, 1998.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Ed. Universidade Rural, 1997.

LEE, Y. T.; LANGENHEIN, J. H. **Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae)**. Berkeley: University of California Press, p. 105, 1975.

LEWINSOHN, T.; PRADO, P. I. **Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual**. Contexto São Paulo, 2002.

LEWIS, G.; SCHRINE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the world**. Kew: Royal Botanic Gardens, p.577, 2005.

LIMA, H. C.; PINTO, R. B. ***Hymenaea* in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 18 março. 2016.

LIMA, J. M.; SILVA, C. A.; ROZA, M. B.; SANTOS, J. B.; OLIVEIRA, T. G.; SILVA, M. B. Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p. 7-11, 2009.

LIMA, H. C. **Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica** – uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p. 122, 2000. (Tese de Doutorado)

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil Nativas e exóticas**. 2ª ed. Nova odessa: Instituto Plantarum, p.544, 2008.

MACE, M. E.; HOWEL L, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in root of cotton seedlings. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 52, p. 2423-2426, 1974.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F., & ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, p.141,1997.

MELO SILVA, S. M.; MARTINS, K.; MESQUITA, G.; GILSON, A.; OLIVEIRA WADT, L. H. PARÂMETROS GENÉTICOS PARA A CONSERVAÇÃO DE *Hymenaea courbaril* L. NA AMAZÔNIA SUL-OCIDENTAL. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, 2014.

MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; MELODEPINNA, G. F. A. Folha. In: APPEZZATO-DAGLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. Viçosa-MG: Editora UFV, p.303-311, 2003.

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

MOUCO, G. B.; BERNARDINHO, M. J.; CORNÉLIO, M. L. Controle de qualidade de ervas medicinais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 68-73. 2003.

NOGUEIRA, R. T.; SHEPHERD, G. J.; LAVERDE, J. R, A.; MARSAIOLI, A. J.; IMAMURA, P. M. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. **Phytochemistry**, London, v.58, n.8, p.1153-1157, 2001.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n.1, p. 8-16, 2011.

PANIZZA S. **Plantas que curam:(cheiro de mato)**. 15 ed. São Paulo: Ibrasa; p. 279 1997.

PEARSE, A. **Histochemistry theoretical and applied**. 4^a ed. v.II, Longman: Group Limited, 1980.

PICMAN, A. K. Biological activities of sesquiterpene lactones. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 14, n. 3, p. 255-281, 1986.

PINTO, J. E. B. P.; SANTIAGO, E. J. A.; LAMEIRA, O. A. **Compêndio de plantas medicinais**. Lavras: UFLA/FAEPE; 2000.

PIZZOLATO, T. D.; LILLIE, R. D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, [S.l.], v. 21, p. 56-64. 1973.

RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. **Vascular Plant Systematics**. New York: Harvard University, p. 888, 1974.

ROBERTS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiocotecnologia**. São Paulo: Premier, p. 93, 1997.

RODRIGUES, A. G. Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. **Anais da V Jornada Catarinense e I Jornada Internacional de Plantas Medicinais**. Joinville, p. 68-69, 2006.

RODRIGUES, R. R.; LIMA, R. A. F.; GANDOLFI, S.; NAVE, A. G. On the restoration of high diversity forests: 30 years of experiences in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, Elsevier, n. 142, p. 1242-1251, 2009.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, [S.l.], v.61, p. 33-36, 1962.

ROQUE, A. A. ROCHA, R. M. LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil) **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

ROSS, J. S. O relevo no processo de produção do espaço. In: MORENO, G.; SANTOS, G. V.; DIAS, H. C.T.; SILVA, A. P. S.; MACEDO, M. N. C. Análise hidrológica e socioambiental da bacia hidrográfica Docórrego Romão dos Reis, Viçosa-MG. **Revista Árvore**, v. 31, n. 5, p. 931-940, 2007.

SECRETARIA DE ESTADO DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO GERAL (SEPLAN). Unidades Climáticas do Estado de Mato Grosso. In: **Zoneamento Sócio Econômico Ecológico. Cuiabá: PRODEAGRO**. CD-Rom do Atlas Climatológico de Mato Grosso. Governo do Estado de Mato Grosso. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral. Laboratório de Climatologia. Universidade Federal do Estado de Mato Grosso, 2006.

SILVA, M. D. **Estudo Farmacobotânico de três espécies medicinais da caatinga em Pernambuco**. 2008. 75f. (Dissertação Mestrado em Botânica)-Departamento de Biologia Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, Recife, 2008.

SILVA, M. S.; LEITE, K. R. B.; SABA, M. D. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Hymenaea martiana* Hayne (Caesalpinioideae-Fabaceae): espécie de uso medicinal em Caetité-BA. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 4, p.673-679, 2012.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 6, n. 2, p. 1-17, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, p. 1102, 2004.

SVENDSEN, B. A.; VERPOORTE, R. **Cromatografia de alcalóides, parte A: cromatografia em camada fina**. Amsterdã, Oxford, Tóquio: Elsevier. 1983.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p.309-334, 2004.

TINCUSI, B. M., JIMÉNEZ, I. A., RAVELO, A. G.;MISSICO, R. New Sesquiterpenes from *Crossopetalum tonduzii*. **Journal of natural products**, v. 61, n. 12, p. 1520-1523, 1998.

VALE, C. R. **Avaliação da Atividade Tóxica, Genotóxica e Antigenotóxica de *Hymenaea courbaril* L. em Camundongos e *Drosophila melanogaster*. 2012. 126f.** (Dissertação de Mestrado do programa de Pós-Graduação em Biologia) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

VALENTIM, A. P. T.; SILVA NASCIMENTO, M. **Atividade antimicrobiana, estudo fitoquímico e identificação de constituintes apolares do alburno de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (jatobá)**. 2006 (Dissertação).

VÁSQUEZ, S. P. F. **Conhecimento, uso e conservação da diversidade vegetal em quatro comunidades ribeirinhas no município Manacapuru, Amazonas**. 2014. 103f. (Tese Pós-Graduação em Botânica)-Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, Manaus, 2014.

VENTRELLA, M. C.; ALMEIDA, A. L.; NERY, L. A; MIRANDA COELHO, V. P. **Métodos histoquímicos aplicados a sementes**. Viçosa: UFV, 2013.

VICKERY, M. L.;VICKERY, B. **Secondary plant metabolism**. Macmillan Press. 1981.

**3.2.DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE
Hymenaea courbaril L. LEGUMINOSAE: UMA ESPÉCIE NATIVA
BRASILEIRA**

Resumo (Diversidade Genética e Estrutura Populacional de *Hymenaea courbaril* L. Leguminosae: uma espécie nativa brasileira) *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) é uma espécie que apresenta importância ecológica, e ocorre em diferentes regiões geográficas do Brasil. Conhecer e avaliar a existência de locais com maior variabilidade genética pode auxiliar em programas e ações de conservação. Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional em populações naturais de *H. courbaril* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores ISSR. Foi coletado material foliar de *H. courbaril* para extração DNA genômico total pelo método CTAB (Brometo de Cetil Trimetil Amônio). Inicialmente, testou 25 *primers* ISSR selecionando-se 10 *primers* para a genotipagem. Uma matriz binária foi construída, a partir da qual foi calculada índices de identidade, dissimilaridade e fluxo gênico dos genótipos. Também foi realizado teste de agrupamento pelo método de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) e pelo programa do Structure. Desta forma, as populações de Marcelândia e da comunidade Central em Alta Floresta, formaram dois grupos cada, e Pista do Cabeça, em Alta Floresta formou seis grupos. A variância genética total entre populações foi de 31,79% e dentro das populações 68,21%. A análise pelo “Structure” evidenciou a diferenciação genética dos genótipos de *H. courbaril* em quatro grupos distintos, enquanto que pelo método UPGMA formou três grupos. Para as três populações a distância geográfica influenciou na dissimilaridade entre os genótipos estudados. Os indivíduos MA-21 e MA-22 foram os mais dissimilares entre todos os indivíduos amostrados. Mesmo assim propõe-se, que indivíduos de ambas as populações, sejam preservados mantendo a variabilidade genética e conservando a espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Conservação, ISSR, Jatobá, variabilidade genética.

Abstract (Genetic Diversity and Population Structure of *Hymenaea courbaril* L. Leguminosae: a Brazilian native species) *Hymenaea courbaril* L ('jatobá') is a species of ecological importance that occurs in different geographical regions. Knowing and evaluating the existence of area with high genetic variability can be useful to programs and conservation actions. In this context this study aimed to evaluate the genetic diversity and population structure of natural populations of *H. courbaril* with natural occurrence in north Mato Grosso State, through ISSR markers. We collected leaf material from *H. courbaril* for total genomic DNA extraction by Doyle & Doyle's CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) method. Initially, we tested 25 ISSR primers and selected 10 primers for genotyping. A binary matrix was constructed from which indices of identity, dissimilarity and gene flow of genotypes were calculated. Also a cluster test was carried out by UPGMA method (Unweighted Pair-Group Method Average), using the computer program Structure. The populations of Marcelândia and Central community in Alta Floresta formed two groups each, while Pista do Cabeça in Alta Floresta formed six groups. Total genetic variance among populations was 31.79% and 68.21% within populations. The analysis by Structure software demonstrated the genetic differentiation of *H. courbaril* genotypes in four distinct groups while UPGMA formed three groups. For the three populations were observed that geographical distance influenced the dissimilarity among the studied genotypes. The MA-21 and MA-22 individuals were the most dissimilar of all individuals sampled. Nevertheless, we proposed that individuals of both populations be preserved to maintain the genetic variability and conserving species.

Key words: Conservation, genetic variability, ISSR, Jatobá.

Introdução

Hymenaea courbaril L. (jatobá) é uma espécie arbórea, pertencente à família Fabaceae e se distribui por toda a América Latina (ANDRADE et al. 2010). Por apresentar uma polpa farinácea envolve o embrião (ALMEIDA et al., 1990), se torna um importante suplemento para espécies da fauna, que dispersam suas sementes, tal fato reforça a importância de preservar e realizar plantios da espécie em áreas degradadas destinadas à recomposição da vegetação arbórea (LIMA et al., 2010).

Seu caule é aproveitado como madeira na construção civil e na indústria de móveis (MELO e MENDES, 2005). Partes da planta são usadas como terapêuticos para diversas doenças (CARVALHO, 1994). Apesar de sua importância e do potencial de mercado, nacional e internacional, o avanço da fronteira agrícola na Amazônia que vem reduzindo progressivamente as populações naturais de muitas espécies entre as quais o Jatobá.

As respostas das espécies vegetais ao processo de fragmentação são altamente variáveis, dependendo de suas características e das alterações ambientais ocorridas (LEWIS et al. 2005). Assim conhecer e avaliar a existência de locais onde tenha uma maior variabilidade genética é muito importante para auxiliar em programas e ações de conservação.

A biologia molecular tem fornecido ferramentas valiosas para análises da variabilidade e estrutura populacional em espécies vegetais, sendo os marcadores moleculares uma dessas ferramentas que detectam as diferenças a nível de DNA, presentes em dois ou mais indivíduos e auxiliam na caracterização molecular do material analisado (PESTSOVA et al. 2000; EXCOFFIER & HECKEL 2006; RIVAS et al. 2013; ROSSI et. al., 2014; GIUSTINA et al. 2014).

Entre os métodos que usam marcadores moleculares está o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) que tem sido amplamente utilizado por ser uma técnica rápida, eficiente, possuir alta reprodutibilidade e gerar altos índices de polimorfismo, fornecendo grande número de dados com custo baixo para o pesquisador, podendo ser transferido para qualquer espécie de planta (BARTH et al. 2002; RIVAS et al. 2013; GIUSTINA et al. 2014; ROSSI et. al., 2014).

Quanto ao modo de reprodução da espécie esta apresenta sistema reprodutivo (alógama) (BAWA, 1974; CRESTANA et al.,1985). A polinização dessa espécie é feita principalmente por morcegos (LEE e LANGENHEIM, 1975; HEITHAUS et al., 1975; CRESTANA et al., 1985; CARVALHO, 1994; GIBBS et al., 1999), e visitantes diurnos (CRESTANA ET AL., 1985). Além destes os animais silvestres, como paca, cutia e macacos, entre outros, que comem a polpa e dispersam as sementes pela floresta (CARVALHO, 1994), afetando a sua estrutura genética. Com os constantes desmatamentos ocorridos na região, o conhecimento da estrutura genética das espécies locais pode fornecer importantes dados da integridade e estrutura destes ambientes.

O presente estudo objetivou avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional em populações naturais de *H. courbaril* com ocorrência natural no norte do Estado de Mato Grosso por meio de marcadores ISSR.

Material e métodos

Área de Estudo e Amostragem do material vegetal

As áreas de estudo estão localizadas na região Norte do Estado de Mato Grosso, compreendendo as localidades: MA (11°02'48"S e 54°29'57"O) no município de Marcelândia- MT; CC (9° 53' 43" S e 55° 54' 30" O), e PC (10° 21' 24" S e 56° 26' 01" O) (Figura 1), localizadas no município de Alta Floresta - MT. O clima da região é do tipo Equatorial quente e úmido, caracterizado por médias anuais de temperatura superior a 24°C e pluviosidade acima de 2.500 mm. A altitude média varia de 200 a 290 m. Os solos, na sua maioria, pertencem à classe dos Latossolos, com relevo plano e suave ondulado, e predomínio da agropecuária e exploração de madeira como atividades econômicas de maior importância nas economias locais. Fundamentalmente, a vegetação é caracterizada pela Savana, Floresta Ombrófila e Floresta Estacional (SEPLAN-MT, 2006).

Os locais de coleta foram selecionados onde a espécie tem ocorrência natural. Cada local se constituiu em uma população de estudo, totalizando três populações. Foram amostrados 54 indivíduos assim distribuídos: MA - 24 indivíduos, CC (Comunidade Central) - 17 indivíduos e PC - 13 indivíduos. Todas as áreas de coleta apresentavam plantas distribuídas ao longo da margem direita e esquerda de rodovias ou estradas, numa faixa de 200 m de cada lado, no qual foi amostrado todos os indivíduos adultos em idade reprodutiva. Todas as plantas amostradas estavam em ambiente de pastagem cultivada com *Urochloa brizantha*.

Coleta do Material

Em cada indivíduo selecionado foi amostrado material foliar, os quais foram coletados com o auxílio de atiradeira manual e podão. Foram coletadas preferencialmente folhas jovens, sem danos mecânicos ou sinais de doença. Todo o material 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 - UNEMAT, e armazenado em freezer (-20 °C) até a extração de DNA.

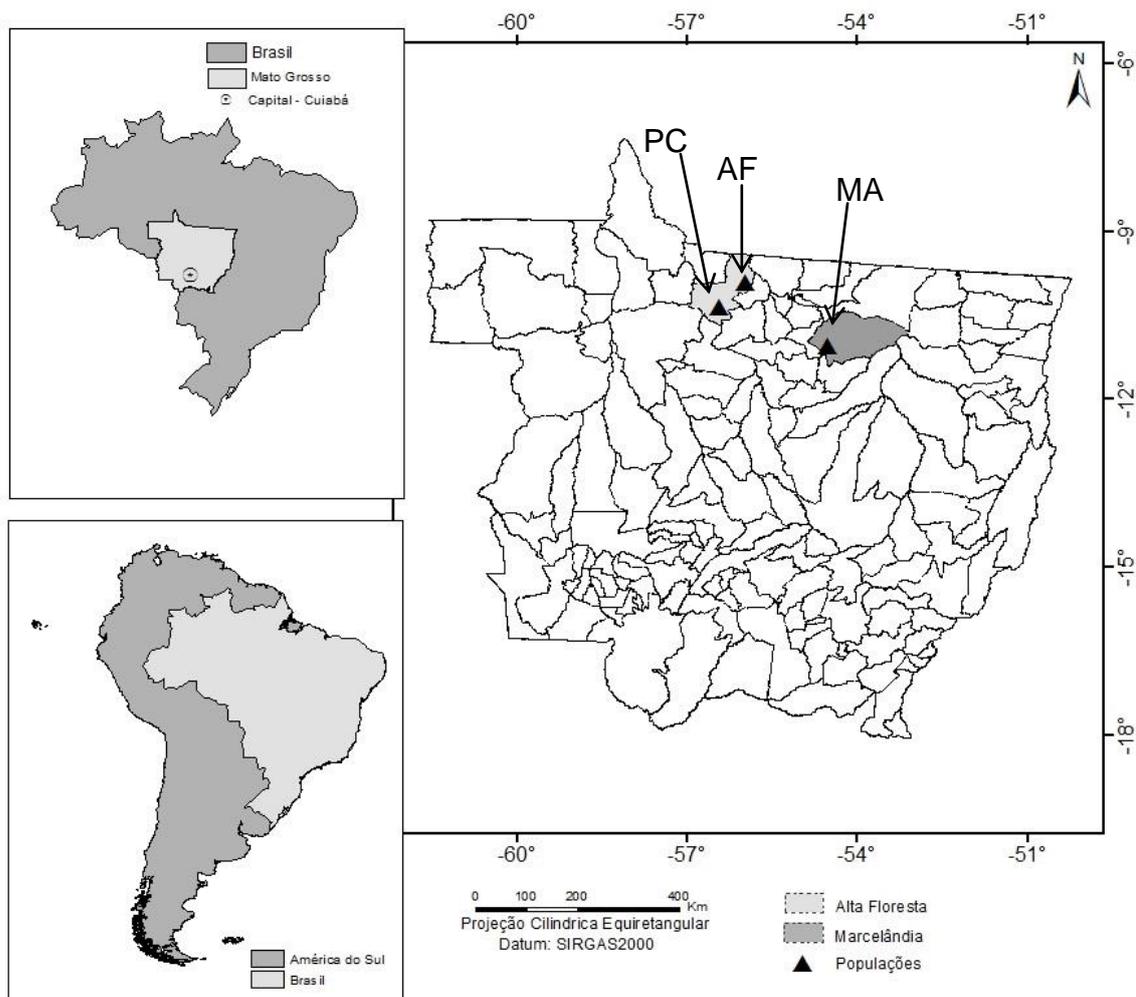


Figura 1: Localização geográfica das três áreas de coleta no município de Alta Floresta Comunidade Central (AF), Pista do Cabeça (PC) e Marcelândia (MA).

Extração e Quantificação de DNA

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

O tecido foliar foi lavado em água corrente e seccionado manualmente em almofariz de porcelana. O tecido foi macerado na presença de nitrogênio líquido com auxílio de um pistilo. O produto resultante da maceração foi transferido para microtubos de 2 mL, ao qual foram adicionados 800 μ L de tampão de extração CTAB (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M cloreto de sódio; 20 mM EDTA; 5% CTAB;

2% polivinilpirrolidona (PVP) e 2% β -mercaptoetanol) foram agitados em vórtex e incubados em banho-maria a 65°C por 30 minutos.

Após resfriamento à temperatura ambiente, os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm em micro centrífuga por 10 minutos. Em seguida a fase aquosa (sobrenadante) foi transferida para um novo tubo de 1,5 mL e adicionado 700 μ L de clorofórmio: álcool isoamílico 24:1 (v/v). Os tubos foram agitados por aproximadamente 1 minuto em vórtex e centrifugados a 10.000 rpm em micro centrífuga por 10 min..

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 12.000 rpm por 10 minutos e o precipitado foi lavado duas vezes com álcool etílico a 70% (v/v) e uma vez com álcool etílico a 95% (v/v).

Depois da secagem por aproximadamente 15 minutos em temperatura ambiente, o precipitado foi ressuscitado em 40 μ L de TE 0,1 mM (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0) com 0,12 μ L RNase na concentração de 10 mg/mL. A solução foi incubada em banho-maria a 35°C por 30 minutos. Posteriormente, os microtubos foram armazenados em geladeira (4°C) por 24 h e depois em freezer (-20°C).

A qualidade e a quantificação do DNA extraído foram realizadas por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio (0,2mg/mL). A quantificação foi comparada através de pesos moleculares de DNA padrão (*lambda*) com amplitude de variação de 10, 20, 50 e 100 ng. O DNA quantificado foi diluído para a obtenção das soluções de trabalho a 10ng/ μ L (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Amplificação e genotipagem de locos ISSR

Inicialmente foram realizados testes de amplificação em três genótipos de jatobá com 25 *primers* ISSR desenvolvidos pela *University of British Columbia* (UBC). Com base nos padrões de bandamento para intensidade, polimorfismo e repetitividade, foram selecionados 10 dos 25 *primers* testados (Tabela 1) para a genotipagem de todos os indivíduos amostrados.

Tabela 1: Relação dos *primers* ISSR utilizados na caracterização molecular dos 54 indivíduos de *Hymenaea courbaril* provenientes de três populações nativas no norte do Estado de Mato Grosso. TM = Temperatura de anelamento referente ao *primer*.

Nome do <i>Primer</i>	Sequência do <i>Primer</i> (5' – 3')	TM (°C)
DiAC3'T	ACACACACACACACT	51,4
DiAC5'DBD	DBDACACACACACAC	50,1
DiAG3'YC	AGAGAGAGAGAGAGYC	50,2
DiCA5'CR	CACACACACACACACR	50
DiCA5'CY	CACACACACACACACY	50
DiCA5'BDB	BDBCACACACACACA	49
DiAC3'YT	ACACACACACACACYT	53
TriACA3'RC	ACAACAACAACAARC	48
DiAC3'G	ACACACACACACACG	53
DiAC3'C	ACACACACACACACC	48

*Y = C ou T; R = A ou G; B = C, G ou T; D = A, G ou T.

As reações de amplificação via PCR, foram realizadas em termociclador Biocycler com um volume final de 20 µL, sendo 1 µL de DNA (\pm 10 ng), 2 µL de tampão 10x (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 1M MgCl₂; 10% Tween 20), 2 µL de MgCl₂ (25 mM), 3 µL de *primer* (2 mM), 4 µL de dNTP (1 mM de cada dNTP), 1 µL DMSO e 0,2 µL de Taq polimerase (5 U/µl).

O programa de amplificação utilizado foi o proposto por Silva (2009) com modificações, sendo: 4 minutos a 94°C (desnaturação inicial); 35 ciclos de 1 minuto a 94°C (desnaturação); 1 minuto a 49-58,8°C (anelamento). A temperatura de anelamento variou de acordo com o iniciador utilizado; três minutos a 72°C (extensão) e sete minutos a 72°C (extensão final).

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão de corrida TBE 1X (89,15 mM de Tris Base; 88,95 mM de Ácido Bórico e 2,23 mM EDTA), com voltagem constante de 90 V por aproximadamente 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®) com câmera digital (Sony®).

Análise estatística

A presença (1) e ausência (0) dos fragmentos amplificados (bandas) foram usadas para a construção de uma matriz binária, a partir da qual foi calculada a porcentagem de polimorfismo obtida com cada *primer* utilizado, por meio da equação 1:

$$P = \frac{nbp}{nbt} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

em que P = porcentagem de polimorfismo; nbp = número de bandas polimórficas; nbt = e número de bandas total. As bandas com coloração fraca e de baixa definição foram descartadas.

A diversidade genética do loco ou PIC (Índice de Conteúdo Polimórfico) é uma estimativa utilizada para a avaliação do poder discriminatório de um loco. A informatividade do loco p_i é a frequência do alelo p no loco p_i , calculado pela equação 2:

$$PIC = 1 - \sum_i p_i^2 \quad (\text{Equação 2})$$

A informatividade do *primer* p_{ij} é a frequência do alelo p do loco i , no *primer* j , (REZENDE et al. 2009), sendo calculada pela equação 3:

$$PIC_{\text{primer}} = 1 - \sum_i x \sum_j x p_{ij}^2 \quad (\text{Equação 3})$$

Para caracterização da variabilidade genética, foi utilizado o Programa POPGENE (Population Genetic Analysis) versão 1.32 (YEH et al. 1999), utilizando-se parâmetros para dados diploides dominantes. Estimou-se a diversidade genética de Nei (1978) (H), a porcentagem de locos polimórficos ($P\%$) e o índice de Shannon (I), para cada população e para o conjunto de populações. Também foi realizada a análise de diversidade genética entre populações pelo método de Nei (1978), estimando-se a heterozigosidade total (H_t), a diversidade gênica média dentro de populações (H_s), a divergência genética média entre populações (G_{st}) e o fluxo gênico (N_m).

A análise de variância molecular (AMOVA) foi utilizada para revelar a distribuição da diversidade genética dentro e entre as populações; de acordo com

Excoffier et al. (1992), com o auxílio do programa ARLEQUIN 3.01 (EXCOFFIER et al. 2006).

Para formação da matriz de dissimilaridade, foi utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard. Esse coeficiente consiste na comparação do número de presenças de bandas comuns e o número total de bandas envolvidas, excluindo o número de ausências conjuntas (MEYER 2002). Tal coeficiente é definido pela equação 4:

$$D_{ij} = 1 - S_{ij} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

$$S_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

a = é o número de bandas presentes nos acessos i, j;

b = é o número de bandas presentes no acesso i e ausentes no acesso j;

c = é o número de bandas presentes no acesso j e ausentes no acesso i.

A matriz de dissimilaridade genética foi utilizada para a análise de agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) que foi computado com o auxílio do programa GENES (CRUZ, 2008).

O programa “Structure” (PRITCHARD et al. 2000), baseado em estatística bayesiana foi utilizado para inferir o número de grupos (K), nos quais os genótipos encontram-se estruturados. Foram realizadas 20 corridas para cada valor de K, 200.000 interações iniciais (“burn-ins”) e 500.000 simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC). Para definição do K mais provável em relação aos propostos foram utilizados os critérios descritos por Pritchard e Wen (2004) e Evano et al. (2005).

Resultados e discussão

Os 10 *primers* ISSR amplificaram um total de 110 fragmentos nos 54 genótipos de jatobá analisados, sendo 86 bandas polimórficas (78,2%) e 24 monomórficas (21,80%). O número de bandas amplificadas por *primer* variou de sete a treze, com média de onze bandas (Tabela 2). O *primer* DiAC3'G revelou a maior porcentagem de polimorfismo nas três populações analisadas. Alves et al. (2007), relata que as espécies arbóreas tropicais apresentam um grande número de alelos por loco. No trabalho de Rossi et al. (2014) que avaliou genótipos de *Mauritia flexuosa* foi descrito uma media de 10,7 bandas por *primer*. Santana et al. (2011) registrou a presença média de 10 bandas por *primer* ao estudarem 17 acessos de umbu-cajazeiras pertencentes ao BAG fruteiras tropicais da Embrapa mandioca e fruticultura com base em marcadores ISSR. Enquanto que Rivas et al. (2013), estudando populações nativas de *Theobroma subincanum* Mart. Obtiveram resultados inferior ao encontrado nesse estudo com número médio de bandas por *primer* de 6,69. Na figura 2 observa-se o perfil de amplificação do *primer* DiAC3'G nos 24 indivíduos da População MA.

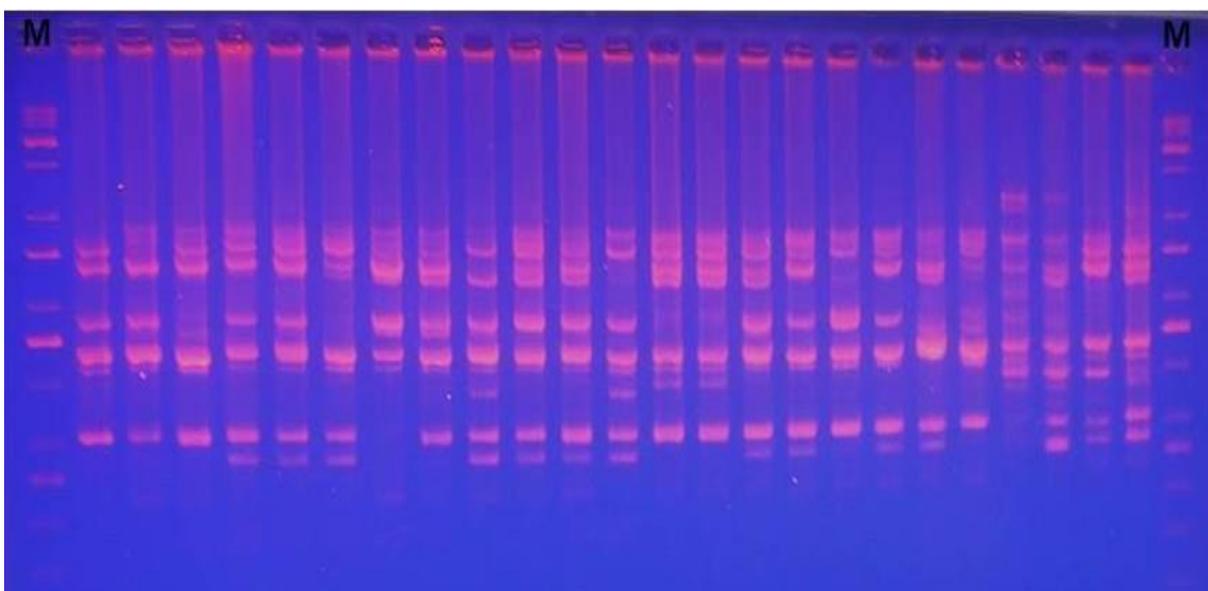


Figura 2: Perfil eletroforético do iniciador DiAC3'G com 24 indivíduos de *H. courbaril* da população MA. M= marcador de 100 bp.

O iniciador que apresentou o maior conteúdo de informação polimórfica (PIC) para a população AF foi DiAC3'T (0,54), para a população PC foi DiAG3'YC (0,56) e para MA foi DiAC5'DBD (0,53). Enquanto os que apresentaram menores

valores foram DiAC3'YT (0,14) para AF, DiCA5'BDB (0,07) para PC e DiCA5'CY (0,13) para MA (Tabela 2).

De acordo com a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,50 mediamente informativos e valores inferiores a 0,25 pouco informativos. Dos 10 iniciadores utilizados 30% apresentaram PIC inferiores a 0,25 nas populações de AF e MA, enquanto na população PC apenas 20% tiveram PIC inferior a 0,25 (Tabela 2), sendo, portanto, classificados como pouco informativo para a espécie em estudo. Os *primers* DiAC3'T; DiAG3'YC e DiAC3'C são os que apresentaram maiores valores de PIC para a três populações, sendo, portanto, os mais recomendados para *H. courbaril*.

Tabela 2: Relação do número de produtos amplificados para cada *primer* com as respectivas porcentagens de polimorfismo (%P), em análise de ISSR, em populações naturais de *H. courbaril*, localizadas em municípios do portal da Amazônia no norte do Estado de Mato Grosso. NT= número total de bandas amplificadas; NP= número total de bandas polimórficas; PIC= conteúdo de informação polimórfica.

Primers	Populações											
	AF				PC				MA			
	NT	NP	%P	PIC	NT	NP	%P	PIC	NT	NP	%P	PIC
DiAC3'T	12	8	66,67	0,54	12	8	66,67	0,53	12	7	58,33	0,46
DiAC5'DBD	13	3	23,08	0,29	13	2	15,38	0,38	13	8	61,54	0,53
DiAG3'YC	8	4	50,00	0,46	8	5	62,50	0,56	8	6	75,00	0,50
DiCA5'CR	10	4	40,00	0,39	10	5	50,00	0,45	10	7	70,00	0,48
DiCA5'CY	13	9	69,23	0,37	13	7	53,85	0,39	13	9	69,23	0,13
DiCA5'BDB	13	6	46,15	0,14	13	4	30,77	0,07	13	7	53,85	0,17
DiAC3'YT	8	5	62,50	0,20	8	5	62,50	0,15	8	3	37,50	0,34
TriACA3'RC	13	9	69,23	0,23	13	8	61,54	0,30	13	11	84,62	0,23
DiAC3'G	13	11	84,62	0,36	13	10	76,92	0,29	13	12	92,31	0,31
DiAC3'C	7	3	42,86	0,49	7	4	57,14	0,43	7	7	100,00	0,42
Total	110	62	56,36	3,47	110	58	52,73	3,55	110	77	70,00	3,57
Média	11	6,2	55,43	0,35	11	5,8	53,73	0,36	11	7,7	70,24	0,36

No dendrograma representando a população de Marcelândia (MA) pode-se observar a formação de dois grupos a um corte de 80% (Figura 3), sendo o grupo I formado por dois genótipos e o grupo II formado pelos outros 22 genótipos. Apesar de estarem mais próximos geograficamente que os genótipos MA-24 e MA14 os genótipos mais dissimilares foram os genótipos MA-1 e MA-22 (Figura 4), enquanto

que os mais similares foram os genótipos MA-13 e MA-14, estes por sua vez estão geograficamente próximos.

Na população da Comunidade Central, assim como na população de Marcelândia teve a formação de dois grupos também a um corte de 80% (Figura 5), sendo o grupo I formado por dois genótipos e o grupo II formado pelos outros 15 genótipos. Os indivíduos mais dissimilares foram os genótipos AF-2 e AF-11, que também apresenta considerada distância geográfica (Figura 6), já os mais similares foram os genótipos AF-13 e AF-14, que geograficamente se apresentaram mais próximos que os demais, podendo indicar que ambos tenham um parentesco comum muito próximo.

A população da Pista do Cabeça por sua vez, formou seis grupos a um corte de 80% (Figura 7), sendo os grupos I, II e IV formados por um genótipo, o grupo III por três genótipos, o grupo V agrupou dois genótipos e por fim o maior grupo (grupo VI) que se formou com cinco genótipos. Os indivíduos mais dissimilares foram os genótipos PC-1 e PC-10, que estão distantes geograficamente (Figura 8), e os mais similares foram os genótipos PC-2 e PC-3 que estão muito próximo geograficamente. Nota-se que para as três populações estudadas as distâncias geográficas influenciaram diretamente no nível de dissimilaridade e de similaridade entre os genótipos estudados, mostrando haver uma relação muito forte entre estas variáveis (distância geográfica e dissimilaridade genética).

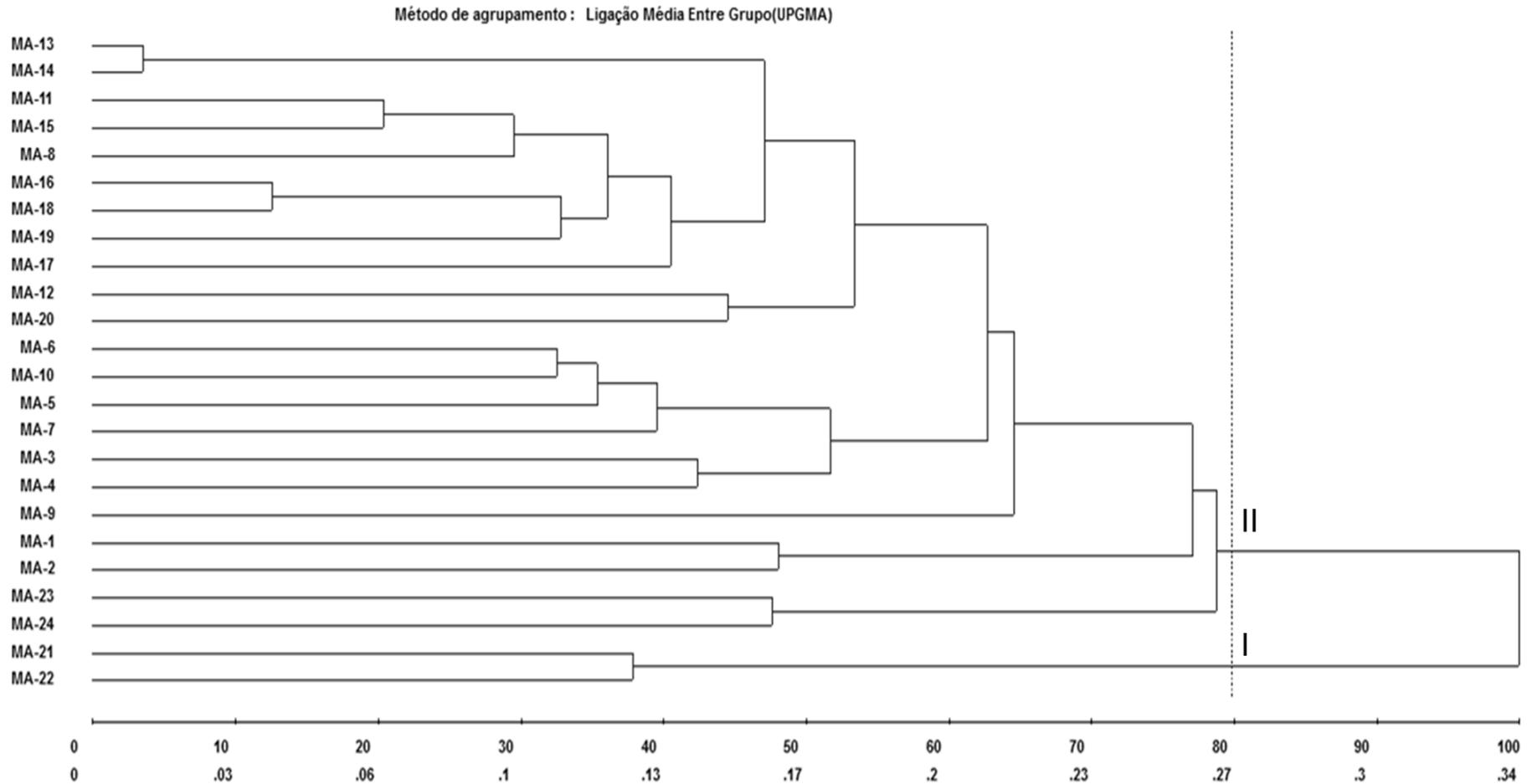


Figura 3: Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos de *H. courbaril*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR para a população MA no município de Marcelândia. Correlação cofenética (CCC): 0,8769; Distorção (%): 2,2199; Estresse (%): 14,8991.

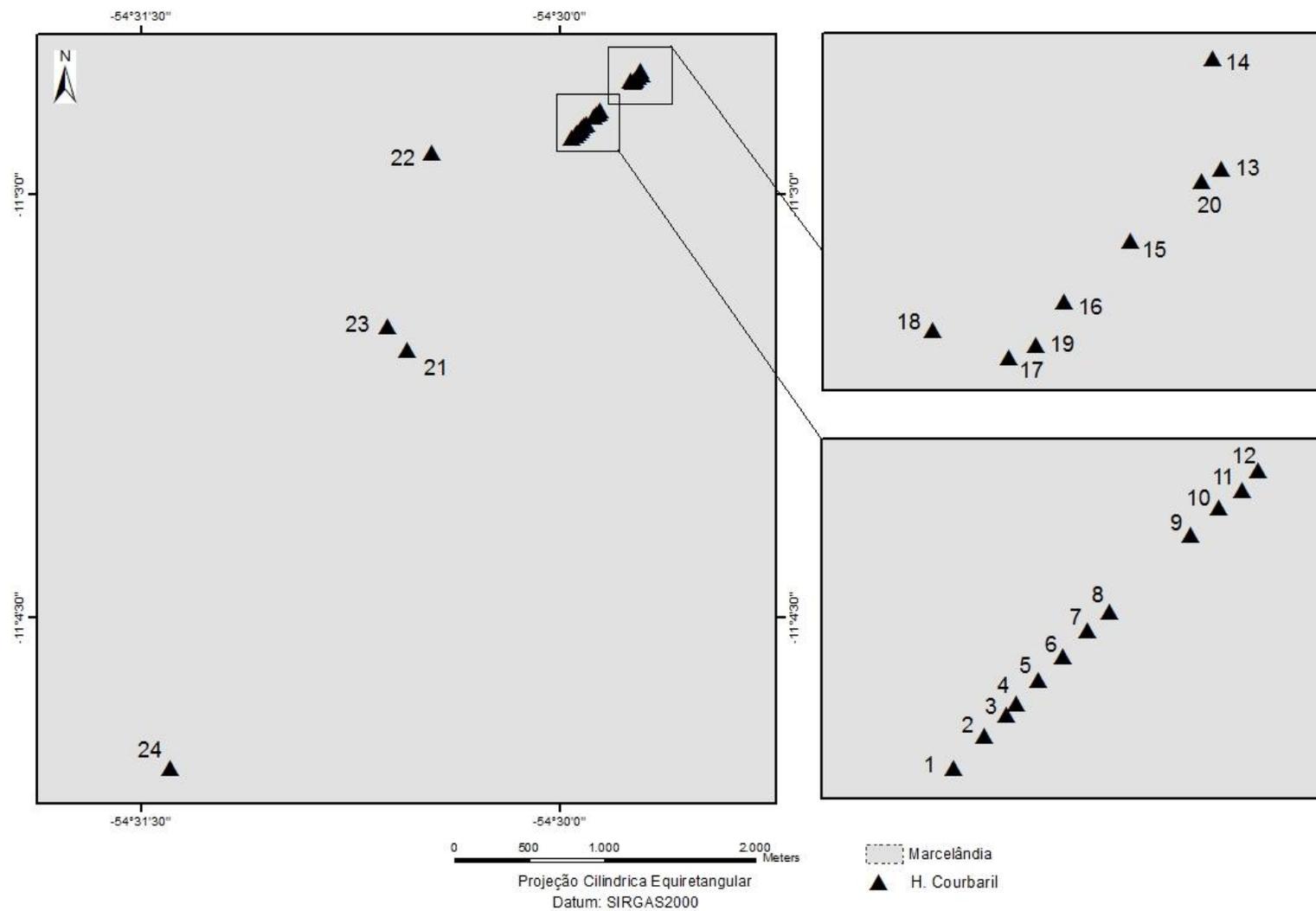


Figura 4: Localização geográfica dos vinte e quatro genótipos de *H. courbaril* analisados neste estudo para população de MA no município de Marcelândia - MT.

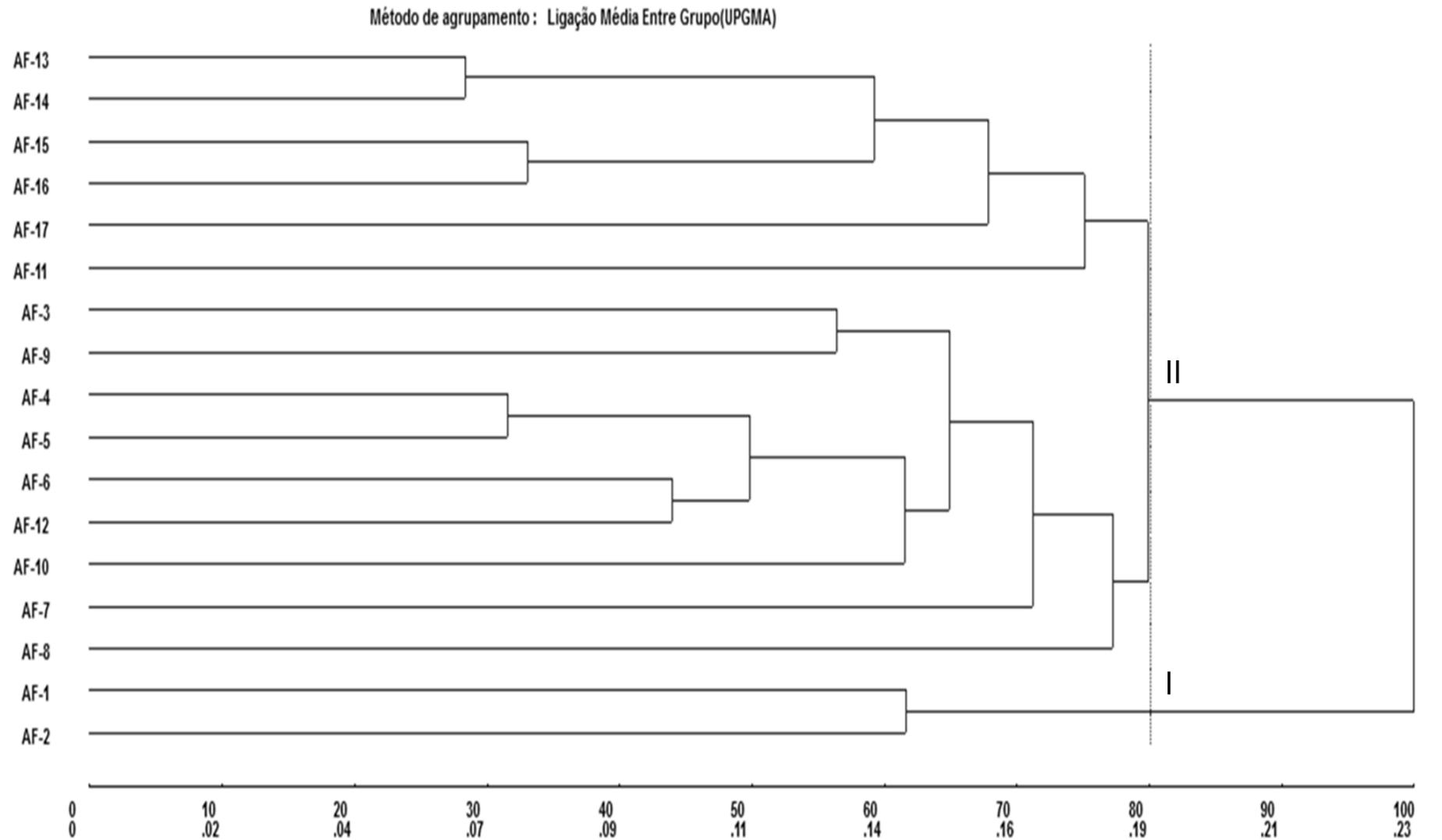


Figura 5: Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos de *H. courbaril*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR para a população de AF, no município de Alta Floresta; Correlação cofenética (CCC): 0,807; Distorção (%): 1,9002; Estresse (%): 13,7973.

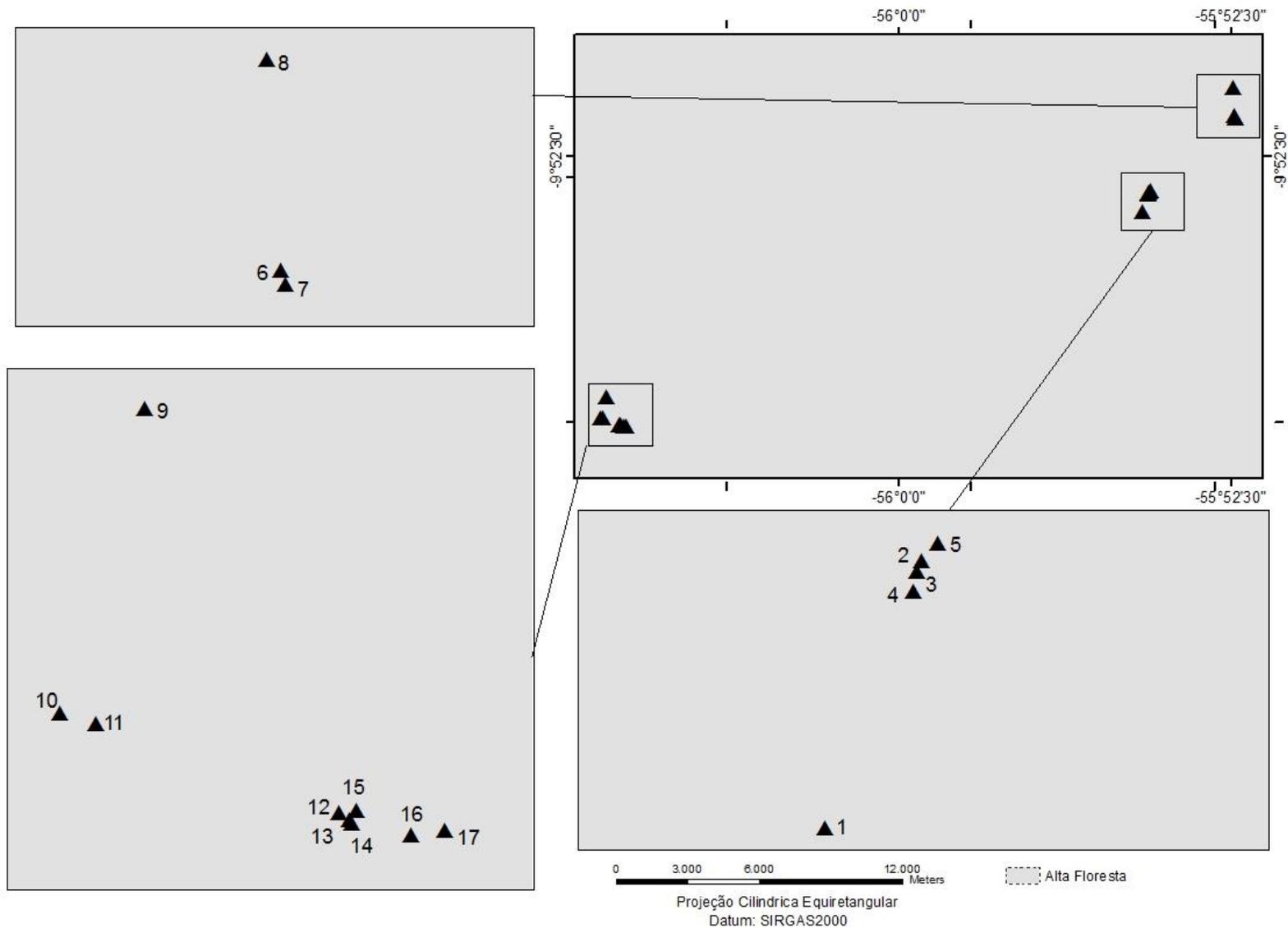


Figura 6: Localização geográfica dos dezessete genótipos de *H. courbaril* analisados neste estudo para a população natural de AF, no município de Alta Floresta – MT.

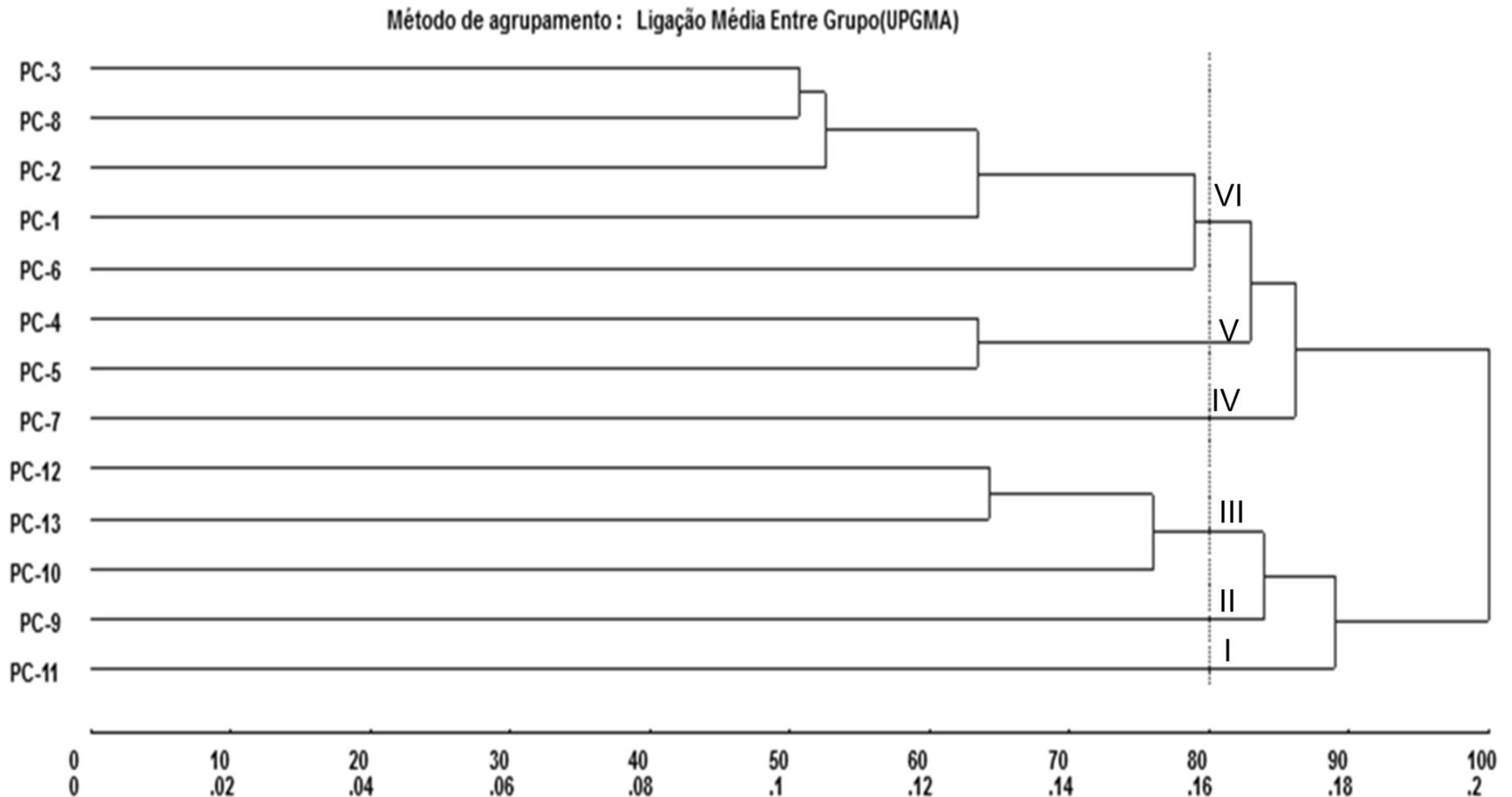


Figura 7: Dendrograma de similaridade genética entre os indivíduos de *H. courbaril*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR para a população da PC no município de Alta Floresta. Correlação cofenética (CCC): 0,793 Distorção (%): 1,222; Estresse (%): 11,0769.

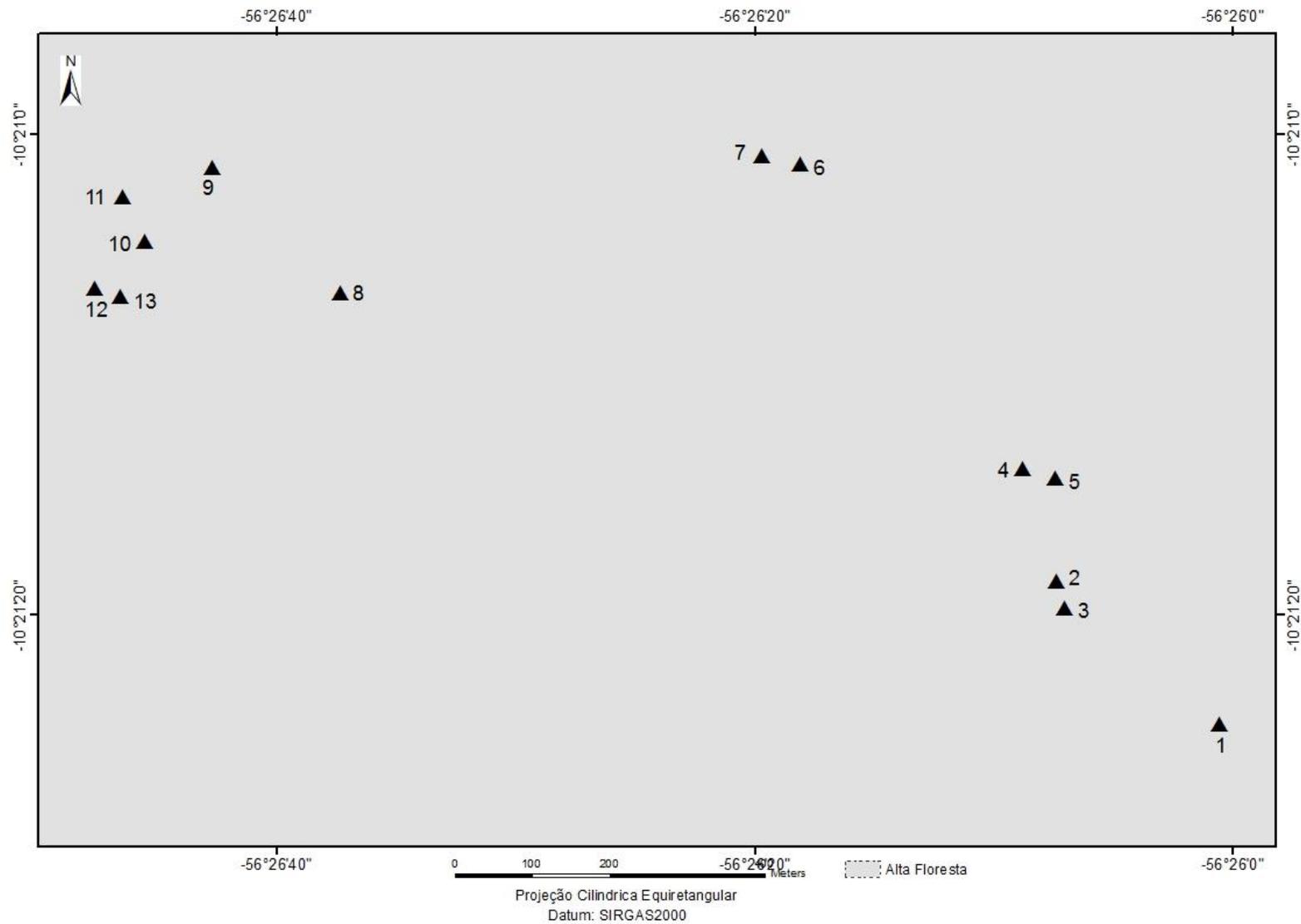


Figura 8: Localização geográfica dos treze genótipos de *H. courbaril* analisados neste estudo para população da PC, no município de Alta Floresta - MT.

O maior índice de diversidade estimados a partir de Nei (1978) e de Shannon foi encontrado nas populações Marcelândia (H = 0,2498 e I = 0,3662) e Alta Floresta (H = 0,1718 e I = 0,2564), enquanto que Pista do Cabeça apresentou a menor diversidade genética (H = 0,1589 e I = 0,2336). Em nível de espécie a diversidade genética foi (H = 0,2706 e I = 0,4074 (Tabela 2). Rossi et al. (2014) estudando diversidade genética em *Mauritia flexuosa* apresentou valores de H= 0,206 e I= 0,308, bem como no trabalho de Estopa et al. (2006) em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (H = 0,490 e I = 0,330) valores estes maiores que no presente trabalho, já Batista et al. (2008) trabalhando com *Papiro tibouchina* verificou valores semelhantes ao deste trabalho (H = I = 0,230 e 0,340). Tais resultados são semelhantes aos do presente estudo. Valores semelhantes também foi registrado por Rivas et al. 2013 em seu trabalho com *Theobroma subincanum* Mart., enquanto que Giustina, et al. 2014 obtiveram valores bem menores trabalhando com *Theobroma speciosum* Willd. Ex Spreng ambas espécies nativas da região de ocorrência do *H. Courbaril*.

As populações de Marcelândia e Alta Floresta apresentaram maior porcentagem de polimorfismo, 65,45% e 50% respectivamente, quando comparadas com Pista do Cabeça que apresentou 42,73%. Todas as três populações estudadas apresentam polimorfismo e diversidade genética entre os indivíduos dentro de cada população.

Tabela 3: Índice de diversidade de Shannon, diversidade genética de Nei e porcentagem (%) de locos polimórficos em populações naturais de *H. courbaril*, localizadas no norte do Estado de Mato Grosso, Brasil.

Populações	Diversidade Genética de Nei (H)	Índice de Shannon (I)	% Locos Polimórficos
Marcelândia	0,2498	0,3662	65,45
Comunidade Central	0,1718	0,2564	50
Pista do Cabeça	0,1589	0,2336	42,73
Conjunto de Populações	0,2706	0,4074	78,18

A heterozigosidade total (Ht) estimada foi de 0,2568 constatando que a espécie apresenta uma reserva de variabilidade genética. A heterozigosidade é um índice de diversidade genética influenciado pelo sistema

reprodutivo da espécie, uma vez que uma espécie alógama apresenta maior heterozigose do que uma autógama (FARALDO et al. 2000). Hamrick (1985) refere-se a populações naturais, afirmando que o fluxo gênico homogeneiza a variabilidade genética entre elas e reduz os efeitos aleatórios da deriva genética.

Nas populações de *H. courbaril* estudadas, a estimativa do fluxo gênico (Nm), ou número de migrantes por geração foi de 1,5284. Há o fluxo de genes de uma geração para outra, revelando assim que as populações não estão isoladas geneticamente. A diversidade genética entre populações (G_{ST}) foi de 0,2465 (Tabela 4), o que pode ser justificado pelo fluxo gênico encontrado.

A estimativa da média do número de migrantes entre populações locais foi próximo ao encontrado por Da Silva Castellen (2005) que encontrou um Nm de 1,78. Valores superiores a 1 indicam que não existem indícios de fortes processos de diferenciação entre as populações.

Tabela 4: Diversidade genética de Nei em populações naturais de *H. courbaril*, localizadas em municípios no norte do Estado de Mato Grosso, Brasil. HT = diversidade genética total (heterozigosidade); HS = diversidade genética dentro das populações; GST = relação entre a diversidade genética entre populações e a diversidade genética total; e Nm = fluxo gênico.

	HT	HS	G_{ST}	Nm
Média	0,2568	0,1935	0,2465	1,5284
Desvio-padrão	0,0325	0,0227		

As duas populações mais distantes geneticamente foram Alta Floresta e Marcelândia (0,1688), distantes geograficamente 209 km uma da outra, e as duas mais similares foram Comunidade Central e Pista do Cabeça (Tabela 5 e Figura 9) distantes 67 km. Tal fato está relacionado diretamente às distâncias geográficas entre as populações amostradas, pois geograficamente as populações da Comunidade Central e Pista do Cabeça estão mais próximas em relação a população de Marcelândia. Rossi et al. (2014), estudando outra espécie também constatou que populações com maior distância genética apresentam as maiores distâncias geográficas.

Tabela 5: Medidas originais de distância genética e identidade genética de Nei (1978) entre populações naturais de *H. courbaril*.

Local	Identidade genética	Distância genética	Distancia geográfica (km)
MA – AF	0,8446	0,1688	209
AF – PC	0,9694	0,0311	67
MA – PC	0,8496	0,1630	217

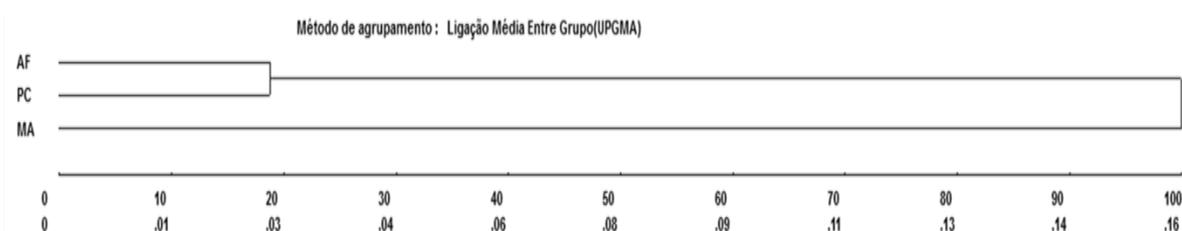


Figura 9: Dendrograma de similaridade genética entre populações de *H. courbaril*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR.

A análise de variância molecular (AMOVA) revelou que 31,79% da variância total está no âmbito de interpopulações e 68,21 intrapopulações, demonstrando que a maior diferenciação genética está no componente intrapopulacional do que no componente interpopulacional (Tabela 6). Houve diferenciação genética significativa ($p < 0,001$) entre as populações.

Estes resultados corroboram com vários trabalhos realizados com espécies tropicais que afirmam que a maior diversidade genética ocorre em nível intrapopulacional (ROSSI et al. 2009; BERTONI et al. 2010; BRANDÃO et al. 2011 e RIVAS et al. 2013). Estudos da variabilidade genética em populações naturais de plantas, em regiões tropicais, têm demonstrado que estas preservam grande variabilidade dentro das populações (PAIVA, 1998).

O F_{ST} (divergência genética interpopulacional) foi estimado em 0,31795 (Tabela 6) e segundo Wright (1978), que caracteriza como baixa divergência ($F_{ST} = 0$ a 0,05), moderada divergência ($F_{ST} = 0,05$ a 0,15), alta divergência ($F_{ST} = 0,15$ a 0,25) e muito alta divergência ($F_{ST} > 0,25$) assim os dados do presente trabalho indicam que há alta divergência genética interpopulacional nas populações estudadas.

Tabela 6: Análise molecular da variância (AMOVA) nas três populações naturais de *H. courbaril*, localizadas em municípios do portal da Amazônia no norte do Estado de Mato Grosso estudadas a partir de dez marcadores ISSR.

Fonte de Variação	GL*	SQ*	CV*	VT (%)*	F_{ST}
Entre Populações	2	163,571	4,18	31,79	0,31795
Dentro de Populações	51	457,188	8,96	68,21	
Total	53	620,759	13,14		

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

A maior variação de divergência encontrado no presente trabalho está relacionado a capacidade da espécie em manter alto grau de cruzamento entre indivíduos, devido ao sistema reprodutivo de *H. courbaril* ser do tipo alógama (SAMPAIO E VENTURINI, 1990; SANTOS, 2002), com indícios de auto-incompatibilidade (BAWA, 1974; JANSEN, 1983). Tal sistema permite que indivíduos dentro de uma população não tenha proximidade genética com os demais, fato comprovado pela ausência de duplicatas neste trabalho (Figura 3, 5 e 7). A auto-incompatibilidade que é registrado na espécie deve-se provavelmente ao processo de rejeição pós-zigótica (GIBBS et al. 1999) que elimina determinados genes com alta compatibilidade entre parentais.

A partir de simulações realizadas pelo programa Structure utilizando abordagem bayesiana, o número mais provável de K agrupamentos foi definido como quatro (Tabela 7), segundo a metodologia de Evanno et al. (2005), evidenciando assim a formação de quatro grupos distintos entre os 52 indivíduos de *H. courbaril* (Figura 11).

A análise bayesiana implementada pelo programa “Structure” evidenciou a diferenciação genética dos indivíduos de *H. courbaril* em quatro grupos distintos (Figura 11). Esta análise agrupa os indivíduos com base em distinções genéticas, sem a necessidade de uma pré-identificação das populações, desta forma, os grupos de indivíduos podem não ser o do levantamento amostral, assim as três populações amostradas nas três localidades de estudo foram reagrupadas. O grupo 1, 2 e 3 do “Structure” corresponde a população natural de Marcelândia, enquanto que o grupo quatro foi formado pelas populações da Comunidade Central e Pista do Cabeça. Pela análise do dendograma UPGMA (Figura 10) é possível entender o

agrupamento entre as populações de AF e PC, na figura do structure, pois o dendograma inferiu que a estrutura genética destas duas populações é de maior similaridade genética em relação a população de Marcelândia (Tabela 5).

Tabela 7: Probabilidades médias de modelos e desvio padrão e Delta K para simulações para diferentes valores de K.

K	Médias das probabilidades	Desvio padrão	Delta K
3	-1637,300	3,897097	—
4	-1560,480	5,594038	8,372306
5	-1530,495	31,908264	0,664561
6	-1521,715	69,509555	—

A partir da análise conjunta das três população (Figura 10) a um corte de 80%, pode-se observar a formação de três grupos. O grupo I alocou dois genótipos (MA-21 e MA-22), sendo que estes dois genótipos também ficaram isolados na análise do Structure (Figura 11), grupo II foi formado por genótipos da Comunidade Central e Pista do Cabeça (AF e PC), estando este grupo em conformidade com Structure (Figura 11). Tal fato reforça que estas duas populações possuem maior similaridade genética. O grupo III formou-se com os outros 22 genótipos de Marcelândia (MA), (Figura 10) e no Structure (Figura 11) estes 22 genótipos se dividiram em dois grupos. Tal subdivisão da população Marcelândia em três grupos pelo Structure reforça o fato de a população em questão apresenta maior diversidade genética.

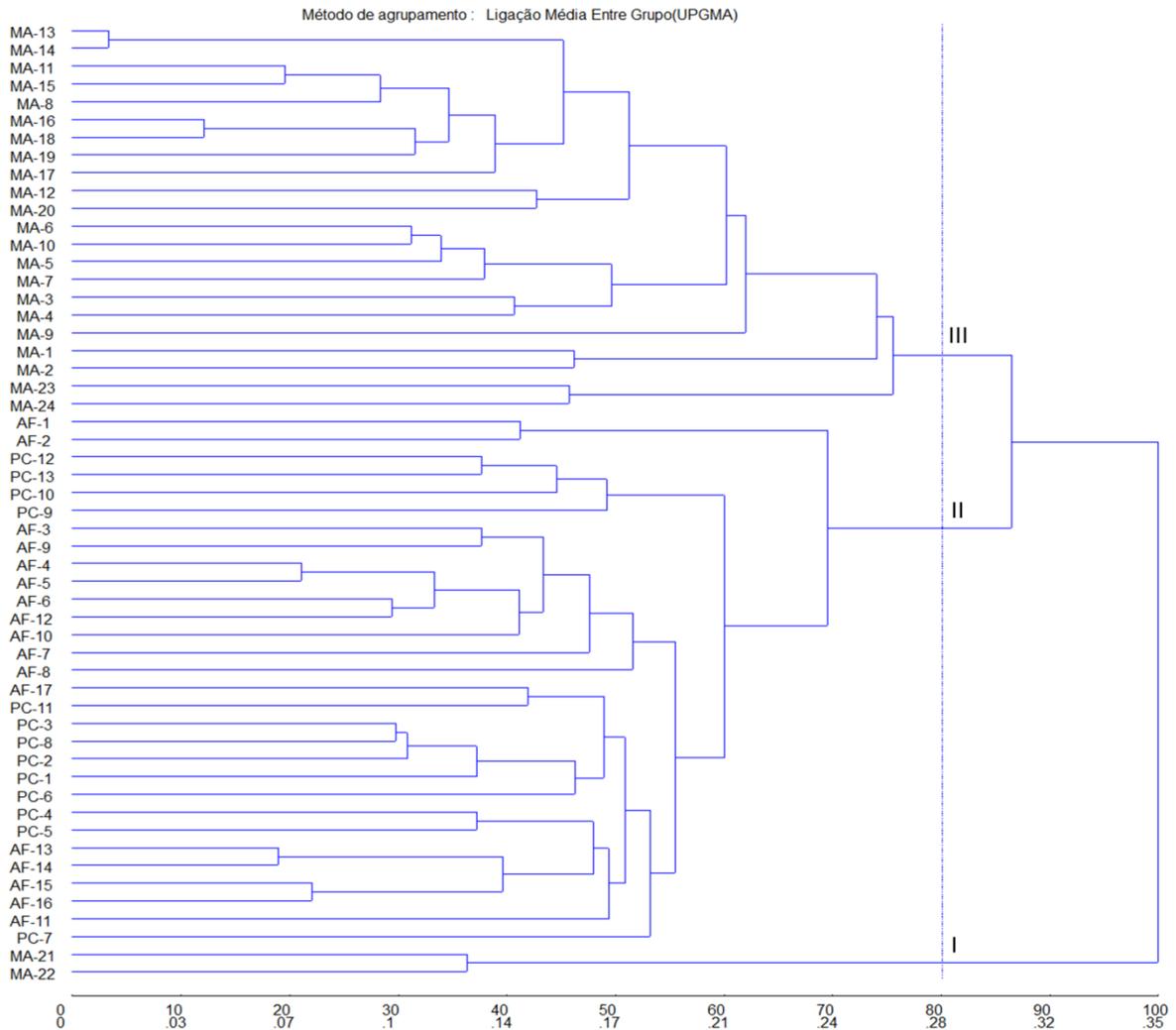


Figura 10: Dendrograma de similaridade genética entre os 54 indivíduos de *H. courbaril*, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard, por meio de marcadores ISSR. Correlação cofenética (CCC): 0,8547; Distorção (%): 1,9807; Estresse (%): 14,0771.

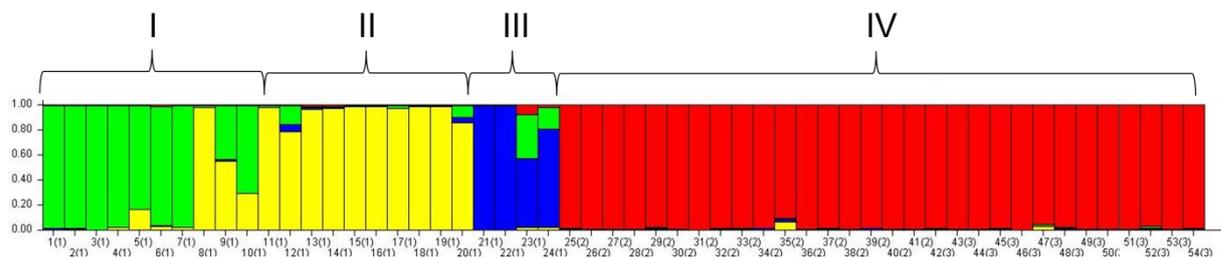


Figura 11: Representação dos 54 indivíduos de *H. courbaril* das três populações estudadas em grupos segundo dados moleculares com 10 ISSRs utilizando o programa “Structure”. Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem (quatro grupos, K = 4).

Conclusões

A caracterização molecular revelou que a diversidade genética é maior em nível intrapopulacional do que interpopulacional nas populações estudadas.

As populações com maior similaridade genética são as mais próximas geograficamente.

Os indivíduos MA-21 e MA-22 foram os mais dissimilares entre todos os indivíduos amostrados.

Por existir variabilidade genética em ambas as populações, e não haver indivíduos geneticamente idênticos propõe-se, que sejam mantidos indivíduos de ambas as populações, a fim de preservar a diversidade genética intrapopulacional possibilitando assim a manutenção da variabilidade genética e a conservação efetiva da espécie.

Referências bibliográficas

- ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; ARTERO, A. S.; CLEMENT, C.; FIGUEIRA, A. High levels of genetic divergence and inbreeding in populations of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) **Tree Genetics & Genomes**, v. 3, p. 289–298, 2007.
- ANDRADE, L. A.; BRUNO, R. L. A.; OLIVEIRA, L. S. B.; SILVA, H. T. F. Aspectos biométricos de frutos e sementes, grau de umidade e superação de dormência de jatobá. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 293-299, 2010.
- BARTH, S.; MELCHINGER, A. E.; LÜBBERSTEDT, T. H. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 3, p. 495-505, 2002.
- BAWA, K. S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Evolution**, p. 85-92, 1974.
- BERTONI, B. W.; TELLES, M. P. C.; MALOSSO, M. G.; TORRES, S. C. Z.; PEREIRA, J. O.; LOURENÇO, M. V.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Genetic diversity in natural populations of *Jacaranda decurrens* Cham. determined using RAPD and AFLP markers. **Genetics and Molecular Biology**. v. 33, p. 532-538, 2010.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLMICK, H. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p. 314-331, 1980.
- BRANDÃO, M. M.; VIEIRA, F. A.; CARVALHO, D. Estrutura genética em microescala espacial de *Myrcia splendens* (Myrtaceae). **Revista Árvore**, v. 35: 957-964, 2011.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa-CNPQ, p. 640, 1994.
- CRESTANA, C. S. M.; DIAS, I. S.; MARIANO, G. Ecologia de polinização de *Hymenaea stilbocarpa* Hayne, o Jatobá. **Silvicultura em São Paulo**, v. 17, n. 19, p. 31-37, 1985.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES – Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV. 2008.
- SILVA, C. M. **Avaliação do estado de conservação de populações naturais de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) por meio de análises de estrutura genética e autocorrelação espacial**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz. 2005. (Tese de Doutorado).

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

EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 4, p. 2611–2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequinver 3.01. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis**. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG). Institute of Zoology University of Berne, 2006.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479–491, 1992.

FARALDO, M. I. F.; SILVA, R. M. D.; ANDO, A.; MARTINS, P. S. Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca em regiões geográficas do Brasil. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 499-505, 2000.

FERREIRA, M. E.; GRATRAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p.220, 1998.

GIBBS, P. E.; OLIVEIRA, P. E.; BIANCHI, M. B. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigocarpa* (Leguminosae-Caesalpinioideae) a bat pollinated tree of the brazilian cerrados. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.160, p.72, 1999.

GIUSTINA, L. D.; LUZ, L. N.; VIEIRA, F. S.; ROSSI, F. S.; SOARES-LOPES, C. R.; PEREIRA, T. N.; ROSSI, A. A. B. Population structure and genetic diversity in natural populations of *Theobroma speciosum* Willd. Ex Spreng (Malvaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 3510-3519, 2014.

HAMRICK, J. L. Isozymes and analysis of genetic structure in plants populations. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.) **Isozyme in plant biology**. Portland: Dioscorides Press, p. 87-105, 1985.

HEITHAUS, E. R.; FLEMING, T. H.; OPLER, P. A. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. **Ecology**, p. 841-854, 1975.

JANSEN, D. H. **Costa rican natural history**. Chicago: University of Chicago Press, p.253, 1983.

LEE, Y. T.; LANGENHEIM, J. H. **Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae)**. University of California Press, 1975.

LEWIS, G.; SCHRINE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the world**. Kew: Royal Botanic Gardens, p. 577, 2005.

LIMA, A. L. D. S.; ZANELLA, F.; CASTRO, L. D. M. D. Growth of *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) under different shading levels. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 43-48, 2010.

MELO, M. G. G; MENDES, A. M. S. Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). **Rede de sementes da Amazônia (Informativo Técnico)**, n. 9, 2005.

MEYER, A. S. **Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, 2002, p.106. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.

PAIVA, J. R. **Melhoramento genético de espécies agroindustriais na Amazônia: estratégias e novas abordagens**. Brasília: Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, p.135, 1998.

PESTSOVA, E.; GANAL, M. W.; RÖDER, M. S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. **Genome**, v. 43, n. 4, p. 689-697, 2000.

PRITCHARD, J. K.; WEN, W. **Documentation for structure software: Version 2.1**. Disponível em: <http://pritch.bsd.uchicago.edu>, 2004. Acesso em: 20, janeiro, 2016).

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

REZENDE, R. K.; PAIVA, L. V.; PAIVA, R.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; TORGA, P. P. Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v. 39, p. 435-2440, 2009.

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**, v. 12, n. 4, p. 4998-5006, 2013.

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**, v. 136, p. 57–67, 2009.

ROSSI, F. S.; ROSSI A. A. B.; DARDENGO J. F. E.; BRAUWERS, L. R.; SILVA, M. L.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética em populações naturais

de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, v. 42, p. 631-639, 2014.

SAMPAIO, P. T. B.; VENTURINI, G. A. Variação genética entre e dentro de progênie de quatro espécies de leguminosa: *Copaifera multijuga*, *Hymenaea coubaril*; *Apuleia leiocarpa* e *Hymenolobium* In: **CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO**, 6; Campos do Jordão, 1990. Anais. São Paulo: SBS/SBEF, 1990. v.3, p.633-635.

SANTANA, I. B. B.; OLIVEIRA, E. J.; FILHO, W. D. S. S.; RITZINGER, R.; AMORIM, E. P.; COSTA, M. A. P. D. C.; MOREIRA, R. F. C. Variabilidade genética entre acessos de umbu-cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 868-876, 2011.

SANTOS, J. D. **Ecologia e genética numa paisagem fragmentada vsandio sua conectividade no Pontal do Paranapanema**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002, p. 101(Dissertação Mestrado)

SECRETARIA DE ESTADO DE PLANEJAMENTO E COORDENAÇÃO GERAL (SEPLAN). Unidades Climáticas do Estado de Mato Grosso. In: **Zoneamento Sócio Econômico Ecológico**. Cuiabá: PRODEAGRO. CD-Rom do Atlas Climatológico de Mato Grosso. Governo do Estado de Mato Grosso. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral. Laboratório de Climatologia. Universidade Federal do Estado de Mato Grosso, 2006.

SILVA, C. J. D. **Caracterização genética de cajazeiras *Spondias mombin* L.) (Anacardiaceae) por meio de marcadores moleculares**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009, p. 98 (Dissertação-Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas).

YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. POPGENE. **Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis**. Release 1.31. Edmonton: University of Alberta. 1999.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho foi importante, pois através da etnobotânica pode verificar o uso da espécie e com a caracterização fito-histoquímica confirmou a presença de metabólitos secundários com potencial medicinal. Além disso, a diversidade se mostrou maior em nível intrapopulacional do que interpopulacional, mostrando a necessidade de preservar não apenas um indivíduo ou uma população mas sim indivíduos um vez que estes não são idênticos geneticamente.

APÊNDICE

ANEXO