

Diversidade genética em populações naturais de  
*Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSRGenetic diversity in natural populations of  
*Mauritia flexuosa* (Arecaceae) using ISSR markersFernanda Saragosa Rossi<sup>1</sup>, Ana Aparecida Bandini Rossi<sup>2</sup>,  
Juliana de Freitas Encinas Dardengo<sup>3</sup>, Luciane Raquel Brauwert<sup>1</sup>,  
Maurecilne Lemes da Silva<sup>2</sup> e Alexandre Magno Sebbenn<sup>4</sup>**Resumo**

Três Populações naturais de *Mauritia flexuosa* localizadas no município de Alta Floresta (estado de Mato Grosso) foram estudadas com o objetivo de avaliar a distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações, a partir de marcadores moleculares ISSR, visando fornecer subsídios para a elaboração de estratégias de manejo e conservação. Foram testados 29 *primers* ISSR para amplificação e selecionados nove para as análises definitivas em 51 indivíduos. Foi amplificado um total de 97 bandas com uma porcentagem de 78,3% de polimorfismo em nível de espécie. As populações Sol Nascente e Santa Luzia apresentaram maior diversidade gênica de Nei ( $H = 0,196$  e  $0,238$ , respectivamente), maior índice de Shannon ( $I = 0,296$  e  $0,355$ , respectivamente) e maior polimorfismo ( $P = 59,8\%$  e  $66,0\%$ , respectivamente) do que à população Monte Alegre ( $H = 0,185$ ;  $I = 0,274$  e  $P = 51,5\%$ ). A AMOVA revelou que 84,1% da variação genética total encontram-se dentro de populações enquanto 15,9% entre populações. O fluxo gênico estimado de 3,02 corrobora com a pequena diferenciação populacional ( $F_{st} = 0,159$  e  $G_{st} = 0,142$ ). A análise de agrupamento confirmou a estrutura geográfica das populações.

**Palavras-chave:** Buriti, Marcadores Moleculares, Variabilidade Genética.

**Abstract**

Three Natural populations of *Mauritia flexuosa* localized in the city of Alta Floresta (Mato Grosso state), were studied to evaluate the distribution of genetic diversity among and within population using ISSR markers, aiming to provide input for the development of management and conservation strategies. Twenty nine ISSR primers were tested for amplification and nine were selected for the definite analyses in 51 individuals. A total of 97 bands were amplified with a percentage of 78.3% of polymorphism at the species level. The populations Sol Nascente and Santa Luzia presented higher Nei genetic diversity ( $H = 0.196$  and  $0.238$ , respectively), Shannon index ( $I = 0.296$  and  $0.355$ , respectively) and polymorphism ( $P = 59.8\%$  and  $66.0\%$ , respectively) than Monte Alegre population ( $H = 0.185$ ;  $I = 0.274$  and  $P = 51.5\%$ ). The AMOVA showed that 84.1% of the total genetic variation was inside of populations whereas 15.9% among populations. The estimated gene flow of 3.02 corroborates with the small population differentiation ( $F_{st} = 0.159$  and  $G_{st} = 0.142$ ). The grouping analysis confirmed the geographical structure of the populations.

**Keywords:** Buriti, Molecular Markers, Genetic Variability.

**INTRODUÇÃO**

A Amazônia abriga a maior diversidade de palmeiras do território brasileiro, nela são encontrados 35 dos 42 gêneros e cerca de 150 das

208 espécies reconhecidas para o Brasil (LORENZI et al., 2004). *Mauritia flexuosa* L. f., conhecida popularmente como buriti, é uma palmeira da família Arecaceae que ocorre em toda a Amazônia, sendo considerada a palmeira mais

<sup>1</sup>Bióloga. UNEMAT - Universidade do estado de Mato Grosso. Campus Universitário de Alta Floresta. Residencial Flamboyant - 78.580-000 - Alta Floresta, MT - Brasil: [fernandasarossi@gmail.com](mailto:fernandasarossi@gmail.com).

<sup>2</sup>Professora Doutora do Departamento de Ciências Biológicas. UNEMAT - Universidade do Estado de Mato Grosso. Campus Universitário de Alta Floresta. Residencial Flamboyant - 78.580-000 Alta Floresta, MT - Brasil. E-mail: [anabanrossi@gmail.com](mailto:anabanrossi@gmail.com); [maurecilne@gmail.com](mailto:maurecilne@gmail.com)

<sup>3</sup>Mestranda em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos. UNEMAT - Universidade do Estado de Mato Grosso. Campus Universitário de Alta Floresta. Residencial Flamboyant - 78580-000 - Alta Floresta, MT - Brasil. E-mail: [ju\\_kk@hotmail.com](mailto:ju_kk@hotmail.com)

<sup>4</sup>Doutor. Pesquisador Científico. IF - Instituto Florestal de São Paulo. CP 1322 - 01059-970 - São Paulo, SP, 01059-970, Brasil.

abundante do Brasil (LORENZI et al., 2010). É encontrada no seu estado silvestre em várias formações vegetais, principalmente em áreas de inundação permanente ou periódica, em agrupamentos mais ou menos homogêneos, sobre solos hidromórficos, formando populações quase mono-específicas, às quais se dá o nome de miritizais ou buritizais (STORTI, 1993; FERNANDES, 2001).

*M. flexuosa* desenvolve um importante papel na economia e nos ecossistemas da Amazônia (GOULDING; SMITH, 2007), pode ser considerada uma espécie-chave devido as amplas relações de associação com a biota (ELLISON et al., 2005), tais como fornecimento de alimentos e habitat para a vida selvagem (HENRY et al, 2000; BRIGHTSMITH, 2005). A espécie é fitotelmata, ou seja, o pecíolo pode armazenar grande volume de água, suportando uma abundante e relativamente rica fauna de macroinvertebrados aquáticos (NEISS, 2007). O fruto faz parte da dieta de povos da Amazônia (HENDERSON, 1995) e é fundamental para a cultura indígena (MEJIA, 1988; HORN et al, 2012). A espécie destaca-se nas aplicações farmacêuticas e industriais devido os níveis de beta-caroteno encontrados nos frutos dessa palmeira (SANTOS, 2005; SILVA et al, 2009; ZANATTA et al., 2010).

Diante da importância ecológica e como alternativa econômica, nos últimos anos tem crescido o número de pesquisas envolvendo *M. flexuosa* (RESENDE et al., 2012). Entretanto, estudos sobre a diversidade genética em populações de buriti são escassos (GOMES et al., 2011). O conhecimento e a organização da variabilidade genética é um passo importante para a conservação genética e para futuros trabalhos de melhoramento, uma vez que o desmatamento e a fragmentação florestal, ocasionados pela expansão da fronteira agropecuária e a exploração seletiva de madeiras, tem gerado perdas irreparáveis no que concerne aos fatores ecológicos e genéticos de manutenção da biodiversidade de espécies amazônicas (ASNER et al., 2009; BROADBENT, 2008; LAURANCE; PERES, 2006), dentre as quais pode-se citar *M. flexuosa*.

A exploração predatória de espécies arbóreas, nas florestas tropicais, pode promover uma série de alterações, tais como: redução no tamanho efetivo populacional, mudanças no padrão de distribuição espacial, no comportamento de polinizadores e dispersores de sementes, na taxa de cruzamento, entre outras (LOVELESS; HAMRICK, 1984; YOUNG et al., 1996). Todos estes fa-

tores podem afetar a estrutura genética das populações e, como conseqüências, trazer a perda de alelos raros, a redução da heterozigosidade e o aumento da endogamia. A perda de alelos leva à redução, na capacidade das espécies, de responder a adversidades ambientais em gerações futuras; pode ocorrer redução na adaptabilidade das espécies (YOUNG et al., 1996). Portanto, a caracterização dos graus de variabilidade e estrutura genética e o conhecimento da movimentação de alelos proporcionam as bases necessárias da execução de estratégias, para maximizar a eficiência dos programas de manejo e conservação genética.

Na caracterização da diversidade genética, basicamente se utilizam quatro tipos de marcadores: morfológicos, bioquímicos, moleculares e citológicos. Os moleculares apresentam a particularidade de poderem ser utilizados para a análise em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (KAMADA et al. 2009).

Os ISSRs (*Inter Simple Sequence Repeats*) são marcadores moleculares semiarbitrários, amplificados por PCR em presença de um oligonucleotídeo complementar para um microssatélite designado (SOUZA et al., 2005). Destacam-se entre outros por não necessitar de informação prévia da seqüência de DNA e apresentar procedimentos laboratoriais com boa taxa de transferibilidade (BARTH et al., 2002). Vários estudos realizados com marcador ISSR têm demonstrado a eficiência desse marcador em análises da variabilidade genética em populações vegetais (ALMEIDA, 2009; BRANDÃO, 2008; CIDADE, 2009; GIUSTINA et al., 2014; RIVAS et al., 2013; ROSSI et al., 2009).

O crescente interesse industrial e farmacêutico por *M. flexuosa*, bem como a fragmentação dos habitats, tem contribuído para a redução das populações e conseqüentemente predispondo a espécie ao risco de perda de variabilidade genética. Portanto, objetivou-se neste estudo avaliar a distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações naturais de *M. flexuosa*, a partir de marcadores moleculares ISSR, visando fornecer subsídios para a elaboração de estratégias de manejo e conservação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material Vegetal

Para caracterização da diversidade genética de *M. flexuosa*, no ano de 2007, foram amostradas três populações naturais, em pequenos fragmen-

tos isolados, localizados no norte do Estado de Mato Grosso, no Município de Alta Floresta (Figura 1). Cada população amostrada é constituída por um buritizal formado por 40 indivíduos em média, assim, foram amostrados na população I (Sol Nascente - SON) 17 indivíduos, na população II (Monte Alegre - MOA) 16 indivíduos e na população III (Santa Luzia - SAL), 18 indivíduos. Foram coletadas folhas jovens dos 51 indivíduos distribuídos nas três populações, o material foliar foi identificado e acondicionado em sílica gel ainda no campo, posteriormente foi armazenado em freezer a -20 °C.

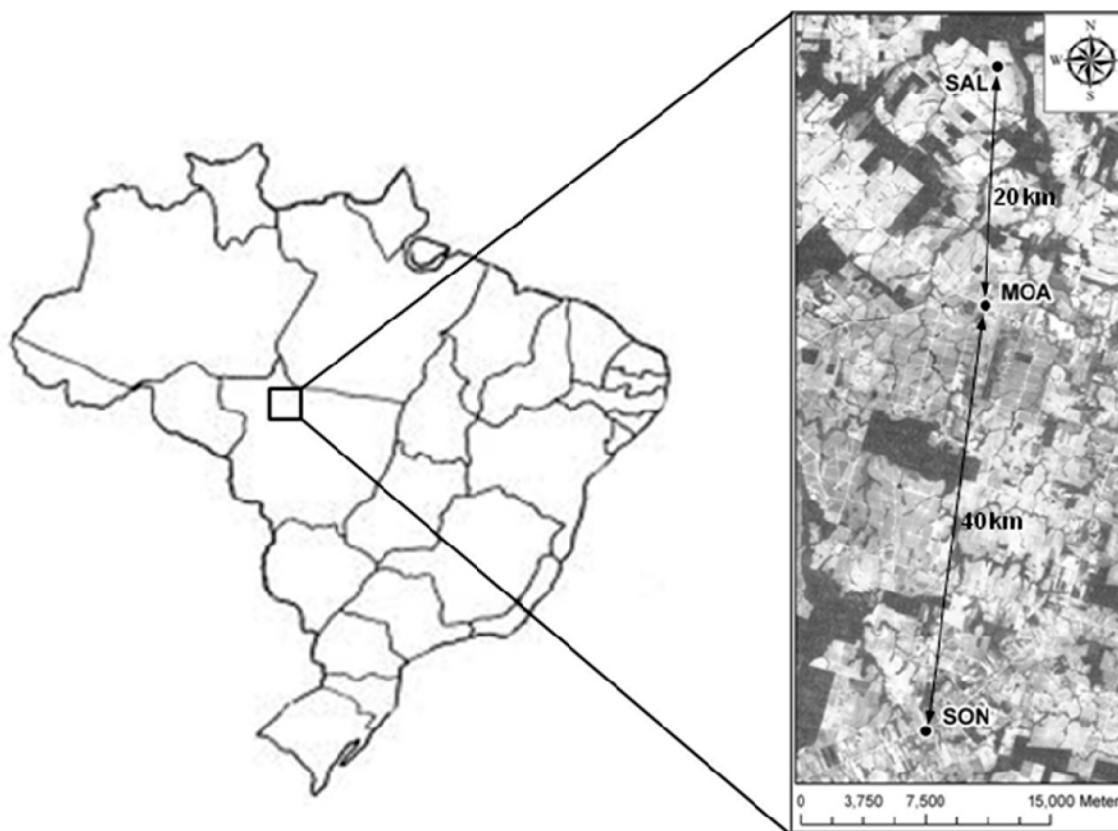
#### **Extração de DNA total, Seleção de primers, otimização da PCR e Amplificação de ISSR**

O DNA genômico total foi extraído de aproximadamente 100 mg de folhas usando o método de CTAB descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações para o buritizeiro: CTAB 3% (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M cloreto de sódio; 20 mM EDTA); 2% polivinilpirrolidona (PVP), 2%  $\beta$ -mercaptoetanol e 30 minutos de incubação em banho Maria. A qualidade e a concentração do DNA extraído foram confirmadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% com marcador de DNA  $\lambda$ .

As Amplificações foram realizadas em um volume total de 20  $\mu$ L contendo: 10 mM Tris-HCl (pH 8,3); 50 mM KCl; 0,1% de tween 20; 2,5 mM  $MgCl_2$ ; 0,2 mM de cada dNTP; 0,2  $\mu$ M de *primer*, 0,75 U de Taq DNA polimerase, 2% formamida, aproximadamente 30 ng de DNA template e água Milli-Q. As amplificações foram conduzidas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) sob as seguintes condições: 1 ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 45-52 °C (dependendo do *primer* utilizado) por 45 segundos e 72 °C por 1,5 minutos e 1 ciclo de extensão final de 72 °C por 7 minutos.

Inicialmente as amplificações foram realizadas em quatro amostras com 29 *primers* de ISSR obtidos da Universidade de British Columbia (UBC 801; 807; 808; 814; 822; 823; 824; 825; 827; 834; 835; 836; 844; 845; 848; 849; 850; 852; 853; 854; 855; 856; 861; 866; 873; 880; 881; 890 e 891). Os nove *primers* de ISSR (Tabela 1) que produziram maior número de bandas confiáveis e polimorfismo reproduzível nas amostras, foram selecionados para as análises definitivas em todos os indivíduos.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tam-



**Figura 1.** Localização geográfica das populações de *M. flexuosa* amostradas no norte do Estado de Mato Grosso, no Município de Alta Floresta. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

**Figure 1.** Geographical location of *M. flexuosa* populations sampled in northern state of Mato Grosso State, in the municipality of Alta Floresta. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

pão de corrida TBE 1X (89,15 mM de Tris Base; 88,95 mM de Ácido Bórico e 2,23 mM EDTA), em voltagem constante de 110 V por quatro horas. A coloração do gel foi feita com brometo de etídeo (0,6 ng.mL<sup>-1</sup>). Os tamanhos dos fragmentos amplificados foram estimados, por comparação, com o marcador molecular de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen<sup>®</sup>). Em seguida o gel foi fotografado sob luz ultravioleta usando o sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Stratagene<sup>®</sup>).

### Análise dos dados

Os fragmentos de ISSR foram codificados como caracteres binários: presença (1) ou ausência (0) de bandas. Apenas bandas robustas e inequívocas foram avaliadas. Bandas com intensidade fraca ou coalescentes com outras bandas foram excluídas. Os dados da matriz de presença/ausência foram importados para o programa POPGENE 1.31 (YEH et al., 1999), onde foram estimados os seguintes parâmetros de diversidade: porcentagem de locos polimórficos (P), índice de diversidade de Shannon (I) e a diversidade gênica de Nei (H) (NEI, 1973). Os parâmetros P, I e H foram calculados em dois níveis: em nível de população (intrapopulacional) e espécie (interpopulacional). A identidade genética e a distância genética entre populações foram também computadas usando o modelo apresentado em Nei (1978). A análise de variância molecular (AMOVA) foi também utilizada para revelar a distribuição da diversidade genética dentro e entre as populações. Nesta análise, a diversidade genética total foi partida em dois níveis hierárquicos distintos: diferença entre populações e entre indivíduos dentro de população. A AMOVA foi realizada de acordo com Excoffier et al. (1992), com o auxílio do programa Arlequin

3.01 (EXCOFFIER et al., 2006). A significância da diferenciação foi testada com 1.000 permutações, em que P denota a probabilidade de se observar um valor ao acaso igual ou maior ao valor observado.

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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estrutura genética de populações naturais de *M. flexuosa*

Os nove *primers* selecionados produziram um total de 97 bandas, que variaram de 300 pb a aproximadamente 2.1 kb, correspondendo a uma média de 10,7 bandas por *primer*. Os iniciadores UBC 807 e UBC 827 foram os que revelaram o maior número de bandas polimórficas (13), enquanto o UBC 834 foi o iniciador menos informativo apresentando apenas duas bandas polimórficas de sete (Tabela 1).

Dos 97 locos revelados neste estudo, 78,3% foram polimórficos em nível de espécie. Portanto, a técnica de ISSR mostrou-se um método eficiente para examinar a diversidade genética dentro de populações naturais de *M. flexuosa*. Gomes et al. (2011) também obtiveram um alto polimorfismo (86,4%) ao analisarem populações de *M. flexuosa* no estado do Amazonas, porém com a utilização de marcadores AFLP.

**Tabela 1.** *Primers* utilizados e números de bandas produzidas em nível de população e de espécie em populações naturais de *M. flexuosa*. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

**Table 1.** *Primers* used and number of bands produced at species and population level in natural populations of *M. flexuosa*. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

| Primers | Número de Bandas (Bandas polimórficas) |           |            |            |
|---------|--|-----------|------------|------------|
|         | SON                                    | MOA       | SAL        | ESPÉCIE    |
| UBC 807 | 16 (12)                                | 14 (8)    | 17 (12)    | 17 (13)    |
| UBC 824 | 11 (9)                                 | 12 (11)   | 11 (10)    | 12 (11)    |
| UBC 827 | 17 (13)                                | 12 (7)    | 15 (10)    | 17 (13)    |
| UBC 834 | 07 (1)                                 | 07 (1)    | 07 (2)     | 07 (2)     |
| UBC 844 | 07 (5)                                 | 09 (7)    | 10 (10)    | 10 (10)    |
| UBC 848 | 10 (8)                                 | 10 (8)    | 09 (7)     | 12 (11)    |
| UBC 855 | 07 (3)                                 | 07 (4)    | 07 (3)     | 07 (4)     |
| UBC 866 | 08 (1)                                 | 08 (1)    | 08 (5)     | 08 (5)     |
| UBC 873 | 06 (6)                                 | 07 (3)    | 07 (5)     | 07 (7)     |
| Média   | 9,8 (6,4)                              | 9,5 (5,5) | 10,1 (7,1) | 10,7 (8,4) |
| Total   | 89 (58)                                | 86 (50)   | 91 (64)    | 97 (76)    |

A população MOA, quando comparada às outras duas populações, demonstrou menor número total de bandas (86 contra 89 SON e 91 SAL), menor porcentagem de bandas polimórficas (51,5% contra 59,8% de SON e 66% de SAL). A população SAL foi a que apresentou o maior percentual de bandas polimórficas.

### Diversidade genética entre e dentro de populações

Dentre as populações analisadas, SAL e SON apresentaram maior diversidade genética, como demonstrado pelos maiores valores de H e I, enquanto que MOA apresentou a menor diversidade genética (Tabela 2). As populações SAL e SON também apresentaram maior porcentagem de polimorfismo quando comparadas com MOA (Tabela 2).

**Tabela 2.** Diversidade genética dentro de populações naturais de *M. flexuosa*. N, tamanho da amostra; P, porcentagem de polimorfismo; H, diversidade gênica de Nei (1973); I, índice de diversidade gênica de Shannon. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

**Table 2.** Genetic diversity within natural populations of *M. flexuosa*. N, sample size; P, polymorphism percentage; H, Nei's genetic diversity (1973); I, Shannon's index of gene diversity. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

| Populações | N  | P (%) | H     | I     |
|------------|----|-------|-------|-------|
| SON        | 17 | 59,8  | 0,196 | 0,296 |
| MOA        | 16 | 51,5  | 0,185 | 0,274 |
| SAL        | 18 | 66,0  | 0,238 | 0,355 |
| Média      |    | 59,1  | 0,206 | 0,308 |
| Espécie    | 51 | 78,3  | 0,242 | 0,370 |

A análise de variância molecular (AMOVA) indicou que 15,87% da variância total esta entre populações e 84,14% dentro de populações, demonstrando que a maior diferenciação genética está no componente intrapopulacional do que no componente interpopulacional (Tabela 3). Estes resultados corroboram com vários trabalhos realizados com espécies tropicais que afirmam que a maior diversidade genética ocorre em nível intrapopulacional (FREITAS et al., 2005; OLIVEIRA; SILVA, 2008; ROSSI et al, 2009). Porém

**Tabela 3.** Análise de variância molecular (AMOVA) das três populações naturais de *M. flexuosa*, com uso de 9 marcadores ISSR.

**Table 3.** Analysis of molecular variance (AMOVA) for three natural populations of *M. flexuosa*, using 9 ISSR markers.

| Fonte de Variação    | GL | SQ      | CV     | VT (%) | Valor de P |
|----------------------|----|---------|--------|--------|------------|
| Entre populações     | 2  | 90,011  | 2,019  | 15,87  | <0,000     |
| Dentro de populações | 48 | 514,087 | 10,710 | 84,13  |            |
| Total                | 50 | 604,098 | 12,729 |        |            |

\*Componente de Variância (CV), Variância Total (VT) e Probabilidades de ter um componente de variância maior que os valores observados ao acaso (P). As probabilidades foram calculadas por 1.000 permutações ao acaso.

Giustina et al. (2014); Rivas et al. (2013) encontraram uma maior diferenciação genética interpopulacional do que intrapopulacional ao analisarem populações naturais de cupuí e cacauí, duas espécies alógamas da região Amazônica. Os resultados encontrados para *M. flexuosa* neste estudo estão de acordo com a afirmação de Hamrick; Godt, (1996), espécies autógamas possuem baixa diversidade genética dentro de populações e alta diferenciação genética entre populações, quando comparadas com espécies alógamas.

Para espécies com reprodução cruzada (alógamas), estimativas da diferenciação genética entre populações naturais baseada em dados de AMOVA com marcadores RAPD (um marcador dominante, como ISSR) têm normalmente sido inferiores a 28%. Para espécies autógamas, a estimativa da variação genética interpopulacional tem normalmente sido superior a 70% (NYBOM; BARTISH, 2000). A diversidade genética entre as populações encontrada neste estudo foi de 15,9% (Tabela 3), o que se encontra dentro das estimativas de Nybom e Bartish (2000) para espécies com reprodução cruzada, Rivas et al. (2013) encontraram uma variação interpopulacional de 51,71% para a espécie *Theobroma sunbincanum* e Giustina et al. (2014) uma variação de 60,45%, ambas dentro dos padrões propostos para espécies alógamas.

A diferenciação genética interpopulacional de 15,9% encontrada neste estudo reforçam as conclusões do estudo de Storti (1993), de biologia floral de *M. flexuosa* onde concluiu que a espécie é dióica e utiliza como sistema de reprodução a xenogamia (fertilização alogâmica realizada por gametas de indivíduos diferentes). Segundo Gomes et al. (2011), o alto padrão de diversidade genética observado em *M. flexuosa* se deve ao fato de que a espécie é alógama.

O baixo valor de  $F_{st}$  (0,1587) obtido sugere não existir uma estruturação entre as populações, ou seja, que existiria fluxo gênico entre as mesmas ( $N_m=3,0255$ ). Esta identidade observada entre as populações possivelmente seja remanescente do período onde a paisagem não se apresentava tão fragmentada e sugere-se que

esta fragmentação da área em estudo seja recente, considerando o ciclo de vida perene da espécie em estudo. Assim, mesmo que as populações não formassem um contínuo na natureza, elas estavam menos distanciadas, e provavelmente com um maior número de indivíduos, mantendo o fluxo gênico entre elas.

Segundo Rosa et al. (2003) no ano de 1976 chegaram os primeiros colonos na região onde seria o município de Alta Floresta, MT, indicando que o processo de redução da cobertura florestal, do habitat em estudo, já acontece há pelo menos 38 anos. Desta forma, um possível isolamento das populações ocorreu entre 35 anos atrás. Considerando uma geração arbórea, para esta espécie perene, de cerca de 30 a 50 anos, haveria no máximo uma geração de isolamento, o que pode ser considerado pouco tempo para que os processos de endogamia sejam refletidos na distribuição da variabilidade genética da espécie, na região em estudo. Segundo Lee et al. (2002), a diversidade genética mantida dentro e entre populações é função de eventos históricos e de processos evolutivos recentes.

### Distância genética entre populações e estrutura geográfica

A Tabela 4 mostra uma estimativa da identidade genética e distância genética de Nei (1978) para todas as comparações, par-a-par entre as populações. A menor distância genética encontrada foi entre as populações SAL e MOA (0,043) e a maior distância foi entre as populações SAL e SON (0,071), correspondendo também as maiores distâncias geográficas.

A análise bayesiana implementada pelo programa "Structure" evidenciou a diferenciação genética dos indivíduos de *M. flexuosa* em três grupos distintos (Figura 2). Esta análise agrupa os indivíduos com base em distinções genéticas, sem a necessidade de uma pré-identificação das

populações, porém os três agrupamentos encontrados corresponderam às três populações de *M. flexuosa* amostradas nas três localidades de estudo. O grupo 1 do "Structure" corresponde a população SAL, o grupo 2 a população MOA e o grupo 3 a população SON. Estes resultados demonstram que as populações de *M. flexuosa* estudadas estão estruturadas geneticamente, ou seja, há variabilidade genética intrapopulacional. As três localidades de amostragem analisadas podem ser de fato reconhecidas como três populações distintas. Farias (2010) ao estudar populações de *Minquartia guianensis* distribuídas ao longo da América Central também encontrou esta estruturação populacional.

**Tabela 4.** Medidas de distância genética de Nei (1978) e distância geográfica entre populações naturais de *M. flexuosa*. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

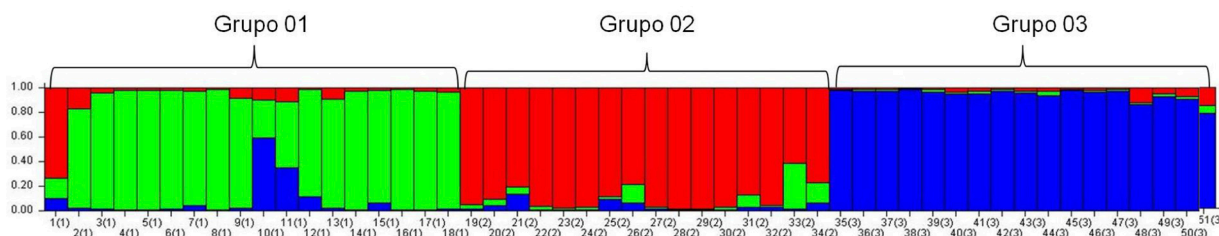
**Table 4.** Measures of Nei's genetic distance (1978) and geographic distance among natural populations of *M. flexuosa*. SON - Sol Nascente; MOA - Monte Alegre; SAL - Santa Luzia.

| Populações  | Distância genética | Distância geográfica |
|-------------|--------------------|----------------------|
| SAL com MOA | 0,043              | 20 km                |
| MOA com SON | 0,061              | 40 km                |
| SAL com SON | 0,071              | 60 km                |

\*Componente de Variância (CV), Variância Total (VT) e Probabilidades de ter um componente de variância maior que os valores observados ao acaso (P). As probabilidades foram calculadas por 1.000 permutações ao acaso.

### Implicações para conservação

Os resultados obtidos neste estudo com marcadores ISSR demonstraram que as populações naturais de *M. flexuosa* apresentam alta variabilidade genética intrapopulacional (84,14%). Uma boa estratégia para a conservação efetiva dessa variabilidade seria a preservação de várias populações ao longo da distribuição geográfica da espécie. Isso garantiria que a alta diversidade genética encontrada fosse mantida nas diferentes populações.



**Figura 2.** Representação dos 51 indivíduos de três populações naturais de *M. flexuosa* em grupos segundo dados moleculares com nove ISSRs utilizando o programa "Structure". Os indivíduos estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem (três grupos, K = 3). Grupo 01 - Santa Luzia; Grupo 02 - Monte Alegre; Grupo 03 - Sol Nascente.

**Figure 2.** 51 individuals from three natural populations of *M. flexuosa* in groups according to molecular data with nine ISSRs using the "Structure" program. The individuals are represented by vertical bars colored according to the group to which they belong (three groups, K = 3). Group 01 - Santa Luzia, Group 02 - Monte Alegre, Group 03 - Sol Nascente.

Nas populações amostradas os indivíduos encontram-se estruturados espacialmente, indicando que o processo de fragmentação na área de estudo pode estar afetando os padrões de reprodução desta espécie, o que pode levar ao cruzamento entre indivíduos aparentados gerando endogamia. Esse processo faz com a espécie em longo prazo, perca sua capacidade reprodutiva.

Dessa forma, os resultados evidenciam a necessidade de conservar as populações naturais de *M. flexuosa* para que sua variabilidade genética não seja perdida ao longo das gerações.

## CONCLUSÕES

Os locos analisados apresentaram uma elevada porcentagem de polimorfismo em nível de espécie. As populações Sol Nascente e Santa Luzia apresentaram maior diversidade gênica de Nei, maior índice de Shannon e maior polimorfismo do que a população Monte Alegre. A diversidade genética entre as populações encontrada neste estudo foi de 15,9%. Propõe-se que sejam conservados vários indivíduos por população, a fim de se preservar a alta diversidade genética intrapopulacional, de modo a possibilitar a manutenção da variabilidade genética e a conservação efetiva dessas populações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASNER, G. P.; RUDEL, T. K.; AIDE, T. M.; DEFRIES, R.; EMERSON, R. A contemporary assessment of change in humid tropical forests. **Conservation Biology**, v.23, n. 6, p. 1386-1395, 2009.
- BARTH, S., MELCHINGER, A. E.; LUBBERSTEDT, T. 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. ., p. 495-505, 2002.
- BRANDÃO, M. M. Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais no sul de Minas Gerais. 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- BRIGHTSMITH, D. J. Parrot nesting in southeastern Peru: Seasonal patterns and keystone trees. **Wilson Bulletin**, Washington, n. 117, n. 3, p. 296 – 305. 2005.
- BROADBENT, E.; ASNER, G. P.; KELLER, M.; KNAP, D.; OLIVEIRA, P.; SILVA, J. Forest fragmentation and edge effects from deforestation and selective logging in the Brazilian Amazon. **Biological Conservation**, v. 140, n. 7, p. 142–155, 2008.
- CIDADE, F. W.; SOUZA-CHIES, T. T.; BATISTA, L. A. R.; DALL’AGNOL, M. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae). **Conservation Genetics**, Arlington, v. 10, n. 6, p. 1977-1980, 2009.
- FERNANDES, N. M. P. Estratégias de produção de sementes e estabelecimento de plântulas de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) no Vale do Acre, Brasil. 2001. 203 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2001.
- 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.
- ELLISON, A. M.; BANK, M. S.; CLINTON B. D.; COLBURN, E. A.; ELLIOTT, K.; FORD, C. R.; FOSTER, D. R. Loss of foundation species: Consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. **Frontiers in Ecology and the Environment**, n. 3, p. 479 – 486. 2005.
- EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, p. 2611–2620, 2005.
- 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**, Pittsburg, v. 131, p. 479–491, 1992.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequin ver 3.01. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis**. Berne: University of Bern, 2006. 230 p.
- FARIAS, G. S. Estrutura genética de populações e filogeografia da acariquara (*Minquartia guianensis* Aubl., Olacaceae). 2010. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2010.

- FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por marcador AFLP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 21-28, 2005.
- GIUSTINA, L. D.; LUZ, L. N.; VIEIRA, F. S.; ROSSI, F. S.; SOARES-LOPES, C. R. A.; PEREIRA, T. N. S.; 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, L. R. P.; LOPES, M. T. G.; BENTES, J. L. S.; BARROS, W. S.; NETO, P. Q. C.; CONTIM, L. A. S. Genetic diversity in natural populations of Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 11, n. 3, p. 216-223, 2011.
- GOULDING, M.; SMITH, N. **Palms, sentinels for amazon conservation**. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2007.
- HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. In Silvertown, J. M.; Franco, J. L.; Harper (Eds.). **Plant life histories. Ecology, phylogeny and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 102-118, 1997.
- HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Conservation Genetics of Endemic Plant Species. In: Avise, J. C.; Hamrick, J. L. (Eds). **Conservation Genetics, Case Histories From Nature**. New York: Chapman and Hall, 1996. p 281-304, 1996.
- HENDERSON, A. **The palms of the Amazon**. Oxford: University Press, 1995. 326 p.
- HENRY, O.; FEER, F.; SABATIER, D. Diet of the lowland tapir (*Tapirus terrestris* L.) in French Guiana. **Biotropica**, Lawrence, v. 32, p. 364 – 368. 2000 .
- HORN, C. M.; GILMORE, M. P.; ENDRESS, B. A. Ecological and socio-economic factors influencing aguaje (*Mauritia flexuosa*) resource management in two indigenous communities in the Peruvian Amazon. **Forest Ecology and Management**, v. 267, n. 93-103. 2012.
- KAMADA, T.; PICOLI, E. A. T.; ALFENAS, A. C.; CRUZ, C. D.; VIEIRA, R. E.; OTONI, W. C. Diversidade genética de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen estimada por marcadores RAPD. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 403-409, 2009.
- LAURANCE, W. F.; PERES, C. A. (Eds.). **Emerging Threats to Tropical Forests**. Chicago: University of Chicago Press, 2006. 520 p.
- LEE, S. L.; SAW, L. G.; NORWATI, A.; SALWANA, M. H. S.; NORWATI, M. Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and conse) and conservation of Virgin Jungle Reserves in Peninsular Malaysia. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 89, n. 3, p. 447-459, 2002.
- LORENZI, H.; NOBLICK, L.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora Brasileira Lorenzi: Arecaceae** (palmeiras). Nova Odessa: Editora Plantarium, 2010, 368 p.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2004, 220 p.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. R. Ecological determinants of genetic structure in plant mutation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 15, p. 65-95. 1984.
- MEJIA, K. Utilization of palms in eleven Mestizo villages of the Peruvian Amazon (Ucayali River, Department of Loreto). **Advances in Economic Botany**, New York, v. 6, p. 130– 136, 1988.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Pittsburgh, v. 89, n. 3, p. 583-590, 1978.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, New York, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.
- NEISS, U. G. **Estrutura da Comunidade de Macroinvertebrados Aquáticos Associados a *Mauritia flexuosa* Linnaeus (1782) (Arecaceae), Fitotelmata, na Amazônia Central, Brasil**. 2007. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, 2007.



- NYBON, H.; BARTISH, I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, Amsterdam, v. 3, p. 93-114, 2000.
- PRITCHARD, J. K.; WEN W. **Documentation for structure software**: Version 2.1. 2004. Disponível em: < <http://pritch.bsd.uchicago.edu> >. Acesso em: 04 abr. 2013
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, n.155, p.945-959, 2000.
- OLIVEIRA, M. S. P.; SILVA, K. J. D. Diferenciação genética entre procedências de açaizeiro por marcadores RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 438-443, 2008.
- RESENDE, I. L. M.; SANTOS, F. P.; CHAVES, L. J.; NASCIMENTO, J. L. Estrutura etária de populações de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) de veredas da região central de Goiás, Brasil. **Revista Árvore**, v. 36, n. 1, p.103-112, 2012.
- 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.
- 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
- 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). **Genética (The Hague)**. v. 136, n. 1, p. 57-67, 2009.
- SANTOS, L. M. P. Nutritional and ecological aspects of buriti or aguaje (*Mauritia flexuosa* Linnaeus filius): A carotene-rich palm fruit from Latin America. **Ecology and Food Nutrition**, v. 44, n. 5, p. 345-358. 2005.
- SILVA, S. M., SAMPAIO, K. A.; TAHAM, T.; ROCCO, S. A.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A. J. A.. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian Amazon region. **Journal of American Oil Chemist Society**, v. 86, n. 7, p. 611-616, 2009.
- SOUZA, V. Q.; PEREIRA, A. S.; MARINIKOPP, M.; COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. E.; LUZ, V. K.; OLIVEIRA, A. C. Dissimilaridade genética em mutantes da aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 569-575, 2005.
- STORTI, E. F. Biologia floral de *Mauritia flexuosa* LIN. FIL, na região de Manaus, AM, Brasil. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 23, n. 1, p. 371 - 381, 1993.
- ZANATTA, C. F.; MITJANS, M.; URGATONDO, V.; ROCHA-FILHO, P. A.; VINARDELL, M. P. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 70 - 75, 2010.
- 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. 300 p.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 11, p. 413-418. 1996.

Recebido em 20/06/2013

Aceito para publicação em 10/08/2014

