



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí
Programa de Pós-Graduação em Conservação de
Recursos Naturais do Cerrado

**ELEVADA DIVERSIDADE E BAIXA
ESTRUTURA GENÉTICA DE
REMANESCENTES DE *Hancornia speciosa*
Gomes EM DUAS FORMAÇÕES SAVÂNICAS
DO BIOMA CERRADO NO PARQUE
ESTADUAL DA SERRA DE CALDAS NOVAS
- GOIÁS**

ÉLIDA PRISCILA BOGÉA CARVALHO

Orientador(a): Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Urutaí, agosto de 2020



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano

Reitor

Prof. Dr. Elias de Pádua Monteiro

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação

Prof. Dr. Alan Carlos da Costa

Campus Urutaí

Diretor Geral

Prof. Dr. Paulo César Ribeiro Cunha

Diretor de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Prof. Dr. Anderson Rodrigo da Silva

**Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do
Cerrado**

Coordenador

Prof. Dr. Daniel de Paiva Silva

Urutaí, agosto de 2020

ÉLIDA PRISCILA BOGÉA CARVALHO

**ELEVADA DIVERSIDADE E BAIXA ESTRUTURA GENÉTICA
DE REMANESCENTES DE *HANCORNIA SPECIOSA* GOMES EM
DUAS FORMAÇÕES SAVÂNICAS DO BIOMA CERRADO NO
PARQUE ESTADUAL DA SERRA DE CALDAS NOVAS - GOIÁS**

Orientador

Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano –
Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais
do Cerrado para obtenção do título de Mestre.

Urutaí (GO)
2020

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

CB674e CARVALHO, ÉLIDA PRISCILA BOGÉA
ELEVADA DIVERSIDADE E BAIXA ESTRUTURA GENÉTICA DE
REMANESCENTES DE *Hancornia speciosa* Gomes EM DUAS
FORMAÇÕES SAVÂNICAS DO BIOMA CERRADO NO PARQUE
ESTADUAL DA SERRA DE CALDAS NOVAS - GOIÁS / ÉLIDA
PRISCILA BOGÉA CARVALHO;orientador IVANDILSON
PESSOA PINTO DE MENEZES. -- Urutaí, 2020.
33 p.

Dissertação (em PÓS GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DOS
RECURSOS NATURAIS DO CERRADO) -- Instituto Federal
Goiano, Campus Urutaí, 2020.

1. *Hancornia speciosa*. 2. Conservação Genética. 3.
Populações naturais. 4. Marcadores Microssatélites.
I. PESSOA PINTO DE MENEZES, IVANDILSON , orient. II.
Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Título da dissertação: Elevada diversidade e baixa estrutura genética de remanescentes de *Hancornia speciosa* Gomes em duas formações savânicas do bioma Cerrado no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas- Goiás.

Orientador: Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Autora: Élide Priscila Bogéa Carvalho

Dissertação de Mestrado **APROVADA** em **31** de **agosto** de **2020**, como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRA EM CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS DO CERRADO**, pela Banca Examinadora especificada a seguir:

Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes - IF Goiano - Campus Urutaí
Orientador

Prof. Dr. Ricardo Diógenes Dias Silveira IF Goiano - Campus Urutaí

Prof. Dr. Thiago Anchieta de Melo Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado eletronicamente por:

- **Thiago Anchieta de Melo, Thiago Anchieta de Melo - 2344 - PROFESSORES DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DO ENSINO SUPERIOR - Uema (06352421000168)**, em 01/09/2020 12:10:57.
- **Ricardo Diogenes Dias Silveira, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 31/08/2020 18:49:35.
- **Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 31/08/2020 18:33:17.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 31/08/2020. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 180906

Código de Autenticação: 4234a578be



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Urutaí

Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, None, URUTAÍ / GO, CEP 75790-000

(64) 3465-1900

*“Quando engenheiros me disseram que iriam usar a tecnologia para recuperar o Rio Doce, perguntaram a minha opinião. Eu respondi: a minha sugestão é muito difícil de colocar em prática, pois teríamos de parar todas as atividades humanas que incidem sobre o corpo do rio, a 100 quilômetros nas margens direita e esquerda até que ele voltasse a ter vida. Então um deles me disse: ‘Mas isso é impossível! O mundo não pode parar!’
E o mundo parou.”*

(Ailton Krenak- Líder indígena, constituinte, ambientalista)

AGRADECIMENTOS

Ao autor de toda diversidade: Tupã, Adonai, Allah, Olorum, por ter confiado a nós toda a natureza há. Não a merecemos!

Ao meu esposo, parceiro, namorado, amigo, professor, incentivador Nivaldo, pelo companheirismo imensurável nessa jornada. Jamais seria possível sem você!

Aos meus pais, avós e irmãos pelo apoio incondicional à minha empreitada, em especial à minha mãe pelas mínimas contribuições do dia-a-dia enquanto eu me dedicava.

Aos meus tios e primos, pela torcida, em especial à minha tia Graça Carvalho e primos Camilla e Thiago, por todo caloroso e fundamental suporte nas minhas vindas e idas ao estudo.

Ao professor Ivandilson, ou simplesmente Ivan, pela acolhida em seu grupo pesquisa, pelos ensinamentos compartilhados e por proporcionar um ambiente de trabalho cordial e harmônico no LaGeM.

Ao professor Marcus Ramos pela presteza que tornou possível este trabalho e por compartilhar seus conhecimentos acerca desse bioma magnífico que é o Cerrado.

Ao professor Luiz Fernando de Camargos pela disponibilidade de ajudar na busca do caminho que levasse às almejadas moléculas.

Aos meus queridíssimos colegas do LaGeM, Letícia, Ana Flávia (pt véa), Lorrana, Rafael, Elias e Maike, por toda sorte colaboração na realização deste trabalho e pela convivência agradável e descontraída em meio à frialdade de equipamentos, reagentes e protocolos. Vocês são dez!

À melhor tchurma formada no seio do PPG- CRENAC em tempos: Alex Gomes, Ana Flávia, Anaian Bembem, Camilla Angélica, Diego Rezende, Éllen Lemes, Fábio Miguel, Italo Rômulo, José Silonardo, Juliene de Brito, Karll Cavalcante, Liliam Rodrigues, Mallú de Mendonça, Marcos Vinicius Rezende, Matheus Rocha, Michelle Granato, Paulo Tárcyo e Rômulo Lustosa. Que o “riso” da seriema seja sempre o nosso o riso...

Ao colega Jean Cramenack, não somente pela importante colaboração em nossas demandas laboratoriais e pela imensa solidariedade manifestada a mim em momentos cruciais, mas também pelos debates intermináveis sobre a contribuição dos nematóides ao Cerrado brasileiro... Rs...

Às amigas Daniele e Ana Lúcia, pela parceria em prol dos animais que levam ternura para onde encontraríamos somente aulas, trabalhos, provas e pesquisas. Obrigada por tudo!

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| LISTA DE FIGURAS | X |
| LISTA DE TABELAS | X |
| ARTIGO | 11 |
| RESUMO | 11 |
| ABSTRACT | 12 |
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 16 |
| 2.1 Coleta <i>in situ</i> , material vegetal e extração de DNA | 16 |
| 2.2 Obtenção dos marcadores microssatélites | 17 |
| 2.3 Análise de dados | 17 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 18 |
| 3.1 Caracterização do local de coleta de amostras dos grupos populacionais | 18 |
| 3.2 Caracterização genética | 20 |
| 4. CONCLUSÕES | 25 |
| 5. ACKNOWLEDGMENT | 26 |
| 6. REFERÊNCIAS | 26 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1. | Parque Estadual da Serra de Caldas Novas | 20 |
| Figura 2. | Dendrograma construído a partir da análise de agrupamento por neighbor joining de 45 mangabeiras adultas de duas populações do PESCAN baseado na distância genética de Roger modificada para 18 marcadores microssatélites | 23 |
| Figura 3. | Análise de coordenadas principais de 45 mangabeiras adultas de duas populações do PESCAN baseado na distância genética de Roger modificada | 24 |
| Figura 4. | Estimativa do número de grupos genéticos (ΔK) em uma coleção de 45 genótipos de mangabeira coletadas no PESCAN usando o método de Evanno na análise do <i>Structure</i> | 24 |
| Figura 5. | Estrutura genética das 45 plantas de mangabeiras coletadas no PESCAN | 25 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabela 1. | Descritores da variabilidade genética de dezoito marcadores SSR polimórficos na amostra total de 45 acessos adultos | 21 |
| Tabela 2. | Descritores da variabilidade genética por acesso de <i>Hancornia speciosa</i> coletados no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas | 21 |

ELEVADA DIVERSIDADE E BAIXA ESTRUTURA GENÉTICA DE REMANESCENTES DE *HANCORNIA SPECIOSA* GOMES EM DUAS FORMAÇÕES SAVÂNICAS DO BIOMA CERRADO NO PARQUE ESTADUAL DA SERRA DE CALDAS NOVAS - GOIÁS

RESUMO

Ações humanas sobre o Cerrado têm levado ao declínio várias populações naturais. Para auxiliar na mitigação a perda de biodiversidade, é necessário entender como a diversidade genética das espécies nativas é mantida nas condições naturais, em especial em áreas protegidas. Este trabalho objetivou avaliar a diversidade e estrutura genética de dois grupos de *Hancornia speciosa* Gomes situados em duas formações savânicas no interior do Parque Estadual de Caldas Novas, Goiás. Foram amostrados 45 indivíduos, 19 do Cerrado Rupestre e 26 do Típico, cujos parâmetros genéticos populacionais foram calculados a partir de dezoito microssatélites. Ambos os grupos apresentaram altos valores de diversidade genética, heterozigosidade observada e baixos valores de endogamia. A diferenciação genética entre eles foi extremamente baixa, conforme observado nos estudos de agrupamentos UPGMA e PCoA. Da análise feita por meio do *STRUCTURE*, obteve-se um valor de $\Delta K = 3$, indicando não haver grupos separados geneticamente, e sim uma elevada mistura de três pools genéticos entre os indivíduos. Assim, demonstrou-se, pela primeira vez, uma fraca estrutura genética entre os dois grupos geograficamente próximos, mas situados em formações savânicas distintas. Esses resultados são relevantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo e conservação da diversidade genética de remanescentes naturais de mangabeira.

Palavras-chave: *Hancornia speciosa*, Conservação Genética, Populações naturais, Marcadores Microssatélites

ABSTRACT

Human actions over Cerrado biomes have been causing decline of several natural populations. To assist in strategies that can mitigate the deterioration of biodiversity, it is necessary to understand how the genetic diversity of native species is maintained under natural conditions, particularly in protected areas. This work aimed to evaluate the diversity and genetic structure of two population groups of *Hancornia speciosa* Gomes separated in two savanna formations of the Cerrado inside the State Park of Caldas Novas, Goiás. A sample was collected consisting of 45 individuals, 19 originated from the Cerrado Rupestre and 26 from the Cerrado Típico. Some population genetic parameters were calculated using 21 microsatellite markers. Both population groups showed high values of genetic diversity, observed heterozygosity and low values of inbreeding. The genetic differentiation between them was extremely low, ratifying the clusters inferred from genotypes of both population groups observed in the UPGMA and PCoA cluster analysis, which did not correspond with the physical location of the population samples. From the analysis made with STRUCTURE, a value of $\Delta K = 3$ was obtained, even though there were no genetically separated groups, but a high proportion of mixture of three gene pools among all individuals. In this way, it was demonstrated, for the first time, a weak genetic structure between two population groups of mangabeira geographically close but located in two different savanna formations of the Cerrado within PESCAN. These results are relevant for the development of management strategies and conservation of the genetic diversity of natural mangabeira remnants.

Keywords: *Hancornia speciosa*, Conservation genetics, Natural populations, Microsatellite markers

1. INTRODUÇÃO

A despeito de ser considerado um dos *hotspot* mundiais de biodiversidade [1], o Cerrado brasileiro é palco de uma constrangedora decadência socioambiental promovida pela substituição de áreas naturais por *commodities* agrícolas, pecuárias e pela mineração [2,3,4]. A expansão dessas atividades trouxe consigo a praxe de uma agressiva interferência humana no curso natural da existência e perpetuação das espécies que é garantida, em particular, pela variabilidade genética [5,6]. Como consequência, esta interferência leva ao declínio seguido da extinção de diversas populações naturais no bioma [7,8].

Ao analisar uma amostra de mais de 800 mil propriedades produtoras de *commodities*, Rajão et al. (2020) [9] constataram que 2% dessas propriedades são responsáveis por 62% de todo o desmatamento ilegal na Amazônia e no Cerrado brasileiro. Considerado o segundo maior da América do Sul, o Cerrado é o bioma com o menor percentual de áreas legalmente protegidas, apresentando apenas 8,21% de seu território sob proteção em unidades de conservação [10]. Em um cenário em que o desmatamento é uma constante no país, segundo o MAPBIOMAS (2020) [11], o Cerrado foi o bioma mais afetado nos últimos anos, perdendo cerca de 408,6 mil hectares apenas entre outubro de 2018 e março de 2019. Como agravante deste desastre, muitos alertas de desmatamento nesse interstício foram registrados em Unidades de Conservação, Terras Indígenas, nascentes e demais Áreas de Preservação Permanente [11,12]. Por isso, parte da biodiversidade do bioma encontra-se criticamente ameaçada e poderá ser extinta antes mesmo de ser conhecida [13,14,15].

Assim, à parte o fato de que “passar a boiada”¹ tenha se revelado, na política ambiental do Estado brasileiro, medida prioritária(!), estudos em fragmentos de vegetação e/ou áreas ainda não exploradas do Cerrado são imprescindíveis para orientar ações de conservação tanto dos recursos genéticos de populações remanescentes do bioma, quanto da biodiversidade, em termos gerais, subsidiando estratégias de manejos de áreas, de programas de recuperação de áreas degradadas, de restabelecimento de fauna associada, de orientação do extrativismo sustentável, de formação de agroecossistemas e de composição de bancos de germoplasma [6,16,17,18,19,20].

Os estudos de genética populacional permitem quantificar e avaliar a organização espacial e temporal da distribuição heterogênea da variação alélica e genotípica nas

¹ Em reunião ministerial, no dia 22 de abril de 2020, o ministro do Meio Ambiente do Brasil, país onde se encontra a maior biodiversidade do mundo, fez a seguinte proposição: “Tudo que a gente faz é pau no Judiciário, no dia seguinte. Então pra isso precisa ter um esforço nosso aqui enquanto estamos nesse momento de tranquilidade no aspecto de cobertura de imprensa, porque só fala de Covid, e ir passando a boiada e mudando todo o regramento e simplificando normas. De Iphan, de Ministério da Agricultura, de Ministério de Meio Ambiente, de ministério disso, de ministério daquilo. Agora é hora de unir esforços pra dar de baciada a simplificação” (disponível em <https://g1.globo.com/politica/noticia/2020/05/22/ministro-do-meio-ambiente-defende-passar-a-boiada-e-mudar-regramento-e-simplificar-normas. ghtml>)

populações, assim como a dinâmica dessa variação, influenciada por fatores naturais ou antrópicos [21,22,23,24]. Dessa forma, trabalhos que contribuam para o monitoramento da dinâmica da composição genética em populações naturais e espécies ameaçadas tornaram-se necessários para compreender a capacidade de manutenção da variabilidade frente às interferências existentes.

A distribuição de populações, de uma mesma espécie nativa, dentro de um bioma, pode revelar uma plasticidade genética e fenotípica apresentada, por exemplo, pela capacidade de adaptação às distintas fitofisionomias. Inúmeros estudos de diversidade e estrutura genética de populações naturais têm sido realizados no Cerrado do Brasil [25,26,27,28,29]. São escassos no país, porém, estudos de genética populacional que estabeleçam comparações entre as diferentes formações fitofisionômicas do Cerrado.

O Parque Estadual da Serra de Caldas Novas - PESCAN é uma área de proteção integral localizada no Centro-Sul do Estado de Goiás, com 125 km² formados por uma elevação de base elipsoidal e ápice aplainado em forma de chapada, a 100 m dessa base. Trata-se de uma unidade de conservação (UC) composta, predominantemente, pelo Cerrado Típico, mas que também exibe outras formações características do bioma, como Cerradão, Campo Cerrado, Campo Rupestre, Vereda e Mata de Galeria [30]. O Parque encontra-se completamente rodeado por áreas devastadas pelas mais diversas demandas humanas, uma vez que loteamentos, clubes de veraneio, propriedades rurais de todos os portes, produção de grãos, pecuária bovina, especulação imobiliária e a intensa atividade turística foram possibilitadas pelo desmatamento e queima da vegetação antes existente. Além disso, muitos desses empreendimentos estabeleceram-se desrespeitando, inclusive, os limites geográficos firmados legalmente para o Parque [30,31]. Como agravante, do ponto de vista ecossistêmico, a área foi incorporada ao contexto turístico inicialmente de modo intempestivo, visto que, a depender do local de sua hospedagem, o turista poderia acessá-la diretamente e de forma irrestrita a partir de suas acomodações, tornando mandatório a execução do plano de manejo do Parque, elaborado em 1997. Dentre outras medidas, o plano estabeleceu o zoneamento da UC, resultando em cinco diferentes zonas, com suas respectivas possibilidades de acesso e uso [30], no interior das quais encontram-se incontáveis populações de espécies nativas como as de *Hancornia speciosa* Gomes.

Pertencente à família das Apocynaceae, a mangaba (*H. speciosa*) é uma frutífera nativa que figura como única espécie de seu gênero, apresentando seis variedades [32] e que ocorrem desde a região Norte até a Sudeste, associada a diferentes tipos de vegetação, como: restingas, de encostas e de Cerrado, conforme pode ser verificado em incontáveis

levantamentos florísticos realizados no Brasil [2,33,34,35,27,36]. Esta ampla distribuição é compatível com a alta adaptabilidade demonstrada pela espécie, a qual é capaz de sobreviver em locais, naturais ou antropizados que, para muitos outros seres, são considerados inóspitos, tais como encostas e beiras de estrada [35].

Enquanto recurso de interesse agrícola, a mangaba tem maior expressão no estado de Sergipe, único do Brasil que possui cadeia produtiva da frutífera [37]. Nas demais regiões, ainda predomina o extrativismo em populações verdadeiramente melhoradas, uma vez que trazem fenótipos definidos pelas vias da evolução [38]. Várias destas populações de mangabeiras encontram-se no Cerrado brasileiro e algumas delas já foram investigadas quanto à sua diversidade genética [26,27,39,40,41]. Não obstante, inúmeras outras populações ainda necessitam desse tipo de estudo, tais como as existentes no PESCAN.

Para a realização de estudo de genética populacional que permita a comparação de grupos de indivíduos da mesma espécie, alocados em diferentes fitofisionomias, é necessário buscar a composição da variação genética destes grupos por meio da análise da dinâmica das frequências genotípicas e alélicas, bem como da ação de forças capazes de alterar tais frequências com o passar das gerações (tamanho da população, isolamento geográfico, estocacidade dos acasalamentos, migração, mutação, seleção natural, deriva genética) [42,43]. O estudo destas frequências, por sua vez, depende da detecção dos alelos e suas formas alternativas (ou polimorfismos) entre os indivíduos da população. Para tanto, esta área da genética tem lançado mão dos recursos da Biologia Molecular, como os marcadores moleculares baseados na amplificação de microssatélites SSR [44,45,46,47]. A codominância, o alto grau de polimorfismo, cobertura genômica abundante e a não suscetibilidade às oscilações ambientais são vantagens que justificam a preferência pelo uso deste marcador em estudos de diversidade biológica [48]. Contudo, ainda é possível considerar que são poucos os estudos em populações naturais de mangabeiras que se utilizaram de marcadores SSR's [39,49,50]. Essa defasagem pode estar relacionada à dificuldade intrínseca ao acesso a populações naturais, ao fato da comunicação científica sobre os marcadores de *H. speciosa* ter ocorrido somente algum tempo após o seu desenvolvimento [51] e à possível prevalência do uso da biotecnologia em estudos voltados às espécies relacionadas ao mercado futuro.

Ante ao exposto, e considerando a importância de monitoramentos regulares para compreender os processos de recuperação após perturbações, subsidiados por informações obtidas a partir de ferramentas moleculares e observações *in situ* das espécies nativas, objetivou-se com o presente trabalho produzir, pela primeira vez, informações quanto a diversidade genética e a distribuição de remanescentes de *H. speciosa* em duas formações

savânicas do Parque Estadual de Caldas Novas - Goiás, por meio de 21 marcadores de microssatélites. Nossa hipótese para este estudo foi a de que, embora geograficamente próximos, os dois grupos de mangabeira seriam geneticamente distintos (estruturação), justificando as diferenças fenotípicas e guardando coerência com as distintas formações savânicas subjacentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta *in situ*, material vegetal e extração de DNA

Expedições de coleta e monitoramento de populações naturais de *H. speciosa* foram realizadas no Parque Estadual de Caldas Novas, Goiás, Brasil, entre os meses de setembro e outubro de 2019. Durante a expedição, foram feitas observações diretas das condições ambientais e dos grupos de *H. speciosa*, assim como a coleta de ramos foliares de cada espécime localizado. As observações *in situ* dos acessos identificados foram considerados na detecção do tipo de fitofisionomia de Cerrado na qual as mangabeiras encontram-se estabelecidas. Os ramos foliares coletados foram envelopados com papel alumínio e acondicionados em caixa térmica com gelo para o seu transporte ao Laboratório de Genética Molecular do Instituto Federal Goiano- Urutaí, onde foram mantidos em freezer até o momento da extração do DNA genômico.

Dois acessos foram localizados com o auxílio do biólogo e diretor do Parque, sendo um deles parte da formação savânica de Cerrado Rupestre e o outro do Cerrado Típico, onde foram realizadas coletadas devidamente identificadas de 19 e 26 plantas adultas, respectivamente. As subpopulações coletadas passaram a ser designadas de acordo com a matriz fitofisionômica de Cerrado a qual que cada uma integra.

A extração do DNA genômico foi realizada a partir de pequenas porções do tecido foliar de cada planta, separadamente. Com auxílio de cadinhos e nitrogênio líquido, realizou-se a maceração dessas porções até tornarem-se pó e permitirem a separação entre o tecido e suas nervuras. Uma amostra do macerado foi depositada até a marca de 1/4 de volume em tubos de 2,0 ml, seguindo o protocolo de extração de DNA de CTAB 2%. Uma alíquota de cada DNA genômico extraído foi quantificado em gel de agarose 1%, usando marcador padrão de DNA lâmbda.

2.2. Obtenção dos marcadores microsatélites

Um conjunto de 21 entre 34 pares de *primers* microsatélites desenvolvidos especificamente para espécie *H. speciosa* foram selecionados para a caracterização da diversidade genética das populações de mangabeiras do PESCAN [51]. A seleção destes 21 *primers* seguiu a ordem de apresentação da caracterização genética publicada por Rodrigues e colaboradores [51], uma vez que há um elevado nível de informação polimórfica de todos os loci avaliados. Cada PCR foi produzida para um volume final de 20 μ L, contendo 5 ng de DNA, 1x de tampão PCR, 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM de dNTP, 0,2 μ L de cada par *primer* (forward e reverse), 1 U de Taq DNA polimerase *Platinum* e água livre de RNAase qsp 20 μ L. A PCR foi conduzida em termociclador por 35 ciclos para as seguintes condições e etapas após desnaturação inicial a 94 °C por 5 min: (i) desnaturação (1 min a 94 °C), (ii) anelamento (1 min a temperatura anelamento para cada par de *primer* recomendada pelos autores [51]; (iii) extensão (1 min a 72 °C); e, por fim, (iv) extensão final de 72 °C por mais 7 min. Em seguida, o produto de amplificação foi separado por eletroforese vertical em gel de poliacrilamida a 6%, corados com nitrato de prata [52] e teve seu tamanho estimado por comparação utilizando ladder padrão de DNA de 50 pares de bases (pb) (Invitrogen™, USD)

2.3. Análise de dados

A análise descritiva da diversidade genética a partir dos acessos de mangabeira foi realizada por meio das estimativas das frequências alélicas dos locos polimórficos, número de alelos por loco (A), número de alelos privados (A_p - alelos encontrado em uma única população), diversidade gênica ou heterozigosidade esperada (H_E) e heterozigosidade observada (H_O), índice de fixação (F_{IS}), probabilidade de identidade (PI) e de exclusão (PE) uniloco e multiloco usando o programa *GenAlEx* v6.5 [53].

A divergência genética entre os pares de indivíduos, bem como entre os acessos, foi calculada com base na distância genética (DG) de Roger [54] modificada por Wright [55] por meio do *software* *Bood* [56]. A geração da matriz de DG entre os pares de indivíduos possibilitou a formação de um dendrograma empregando método de agrupamento *neighbor joining* a partir do programa *DARwin* v5.0158 [57]. Para auxiliar na análise de agrupamento, a análise de coordenada principal (PCoA) também foi produzida com base na distância genética de Roger modificada, utilizando-se o programa *GenAlEx* v6.5 [53], por meio do qual também foi realizada a análise de variância molecular (AMOVA) para verificar o

particionamento da variação genética entre e dentro dos acessos, assim como para estimar a diferenciação genética (F_{ST}) entre os acessos, de acordo com a estatística F de Wright [55].

Com auxílio do programa STRUCTURE v2.2.4 [58] inferiu-se a estruturação dos genótipos estudados, por meio de agrupamento baseado no modelo bayesiano. A análise foi executada considerando o modelo *admixture*, com frequência correlacionada para K variando de 1 a 6, com 15 repetições para cada valor de K . Para cada corrida definiu-se um *burn-in* de 50000, seguido de 500000 iterações de MCMC (*Markov chain Monte Carlo*). Para determinar o número de grupos genéticos (ΔK mais provável) quanto a organização genética dos acessos, utilizou-se o procedimento proposto por Evanno et al. (2005) [59] através do aplicativo *Structure Harvester* [60].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização do local de coleta de amostras dos grupos populacionais

A análise da disposição geográfica dos acessos, a partir do posicionamento georreferenciado dos espécimes, revela que estes grupos encontram-se separados porém a uma distância mínima entre indivíduos de ambos os conjuntos da ordem de 100 m (Figura 1). Os espécimes amostrados integram uma região de formações savânicas dentro do PESCAN.

Entretanto, diante das condições edáficas e fitofisionômicas identificadas *in situ*, observou-se que as 19 mangabeiras do grupo populacional 1 compõem um fragmento de Cerrado Rupestre com transição para Cerrado Típico. Nessa região o solo apresenta coloração muito clara, sem profundidade e com afloramento de quartzito. Esses atributos são compatíveis, de acordo com o SiBCS [61], com o Neossolo lítico, que se distingue dos demais Neossolos pelo contato lítico ou lítico fragmentário dentro de 50 cm a partir da superfície. Neste contexto, observou-se que as mangabeiras do Cerrado Rupestre apresentam-se relativamente mais estioladas (chegando a cerca de dois metros de altura) e mais adensadas em meio a uma vegetação rala. Já o solo sob os 26 espécimes do grupo populacional 2 apresenta-se mais profundo, com uma declividade suave, com uma coloração amarelada a amarelo-avermelhada e sem cascalhos (quartzito), sinalizando a presença de um Latossolo [61]. Neste cenário, a vegetação é mais diversa e de maior porte, visto que os indivíduos podem formar raízes mais profundas. Isto proporciona um maior sombreamento na área, levando as mangabeiras a distribuírem-se de uma forma mais espaçada e a apresentarem-se menos estiolada em relação aos indivíduos do Cerrado Rupestre, uma vez que a espécie tem preferência pela exposição à luz do sol [62].

Todos os indivíduos localizados, em ambos os grupos populacionais, estão na fase adulta e, embora predominem estudos sugerindo o interstício agosto/dezembro (com pico em outubro) como o período mais expressivo de floração e frutificação de *H. speciosa* em condições naturais na região do Cerrado [63], não foi constatado, por ocasião das coletas realizadas nos meses de setembro e outubro, indícios dessas fenofases. Pilon et al. (2015) [64] também observaram fenologia semelhante, mesmo para mangabeiras sob condições de cultivo, em quatro anos de acompanhamento de nativas do Cerrado. O estudo detectou que, nos meses de setembro, foram mais recorrentes a brotação depois a queda de folhas seguida da floração da espécie. Já nos meses de outubro, a floração foi mais frequente, seguida da frutificação e brotação, que foram igualmente recorrentes.

Além de todo o Parque estar completamente circundado por área de grande antropização e apesar de ambas as populações submetidas ao nosso estudo encontrarem-se dentro da Zona Intangível-ZI (a mais restrita do parque por se dedicar a proteção integral do ecossistema e onde é proibida a circulação do público), estes grupos populacionais estão cortados por uma Zona de Uso Especial- ZUE (formada por algumas vias de circulação para turismo e pontos de visitação) e próximos à Zona de Uso Intensivo- ZUI e à Zona Primitiva- ZP (onde são permitidos apenas determinadas atividades como as educacionais e de pesquisa científica, o deslocamento a pé e não é permitida a instalação de qualquer infraestrutura) [30]. Dessa forma, ainda que a literatura reporte a mangabeira como altamente adaptável a áreas impactadas [35], a perpetuação da espécie em *habitats* alterados pode encontrar dificuldades a nível das interações ecológicas necessárias para a renovação dos indivíduos na população, uma vez que a adaptabilidade das *H. speciosa* a ambientes perturbados e/ou em constante perturbação não necessariamente se estende às raposas-do-campo, cachorro-do-mato e lobos guarás, bem como às mariposas, abelhas e borboletas imprescindíveis para intermediar a dispersão [65,66] e a polinização das mangabeiras, cujas flores são hermafroditas porém autoincompatíveis [62,67].

Ademais, o potencial impacto negativo sobre essas relações interespecíficas provocado pelo uso da ZUE que cruzam os grupos populacionais, como se infere do grau de compactação das vias observado no local, precisa ser aferido. O que, inclusive, poderia nortear um redesenho das zonas de conservação do PESCAN, bem como expor a necessidade do incremento tecnológico como, por exemplo, o da substituição do trânsito humano relacionado ao monitoramento e fiscalização pela adoção de alternativas modernas como os veículos aéreos não tripulados do tipo drone [68].

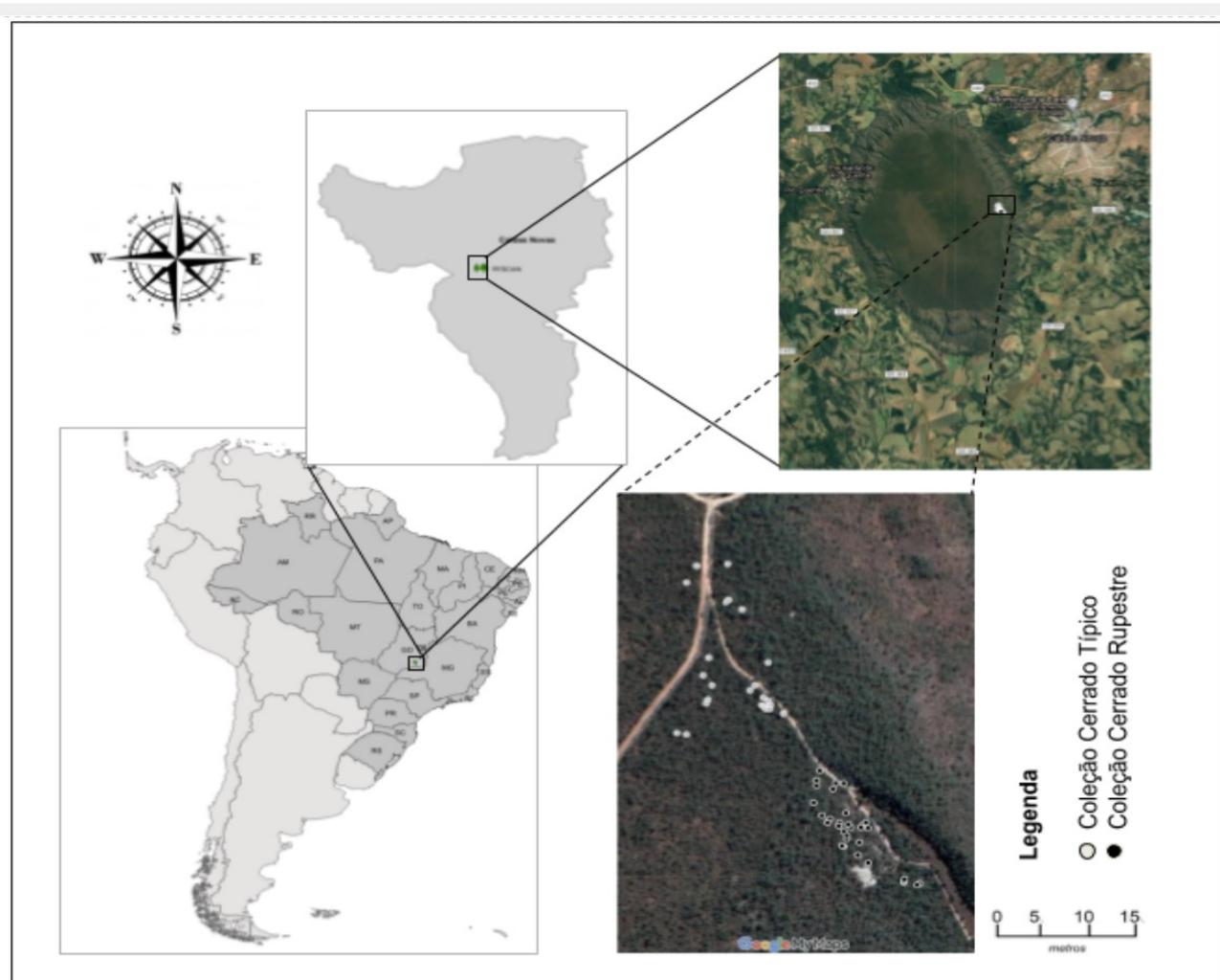


Figura 1. Parque Estadual da Serra de Caldas Novas. Pontos em preto: grupo populacional de mangabeiras em Cerrado Rupestre; pontos em branco: grupo populacional de mangabeiras em Cerrado Típico.

3.2. Caracterização genética

A partir de 21 marcadores de microssatélites, buscou-se genotipar 45 indivíduos da espécie *Hancornia speciosa* Gomes pertencentes ao PESCAN, sendo 19 do grupo populacional Rupestre e 26 do grupo populacional Típico. E, embora três dos marcadores utilizados (HS19, HS20 e HS21) não tenham concorrido para a genotipagem devido a problemas de amplificação, todos os demais apresentaram-se polimórficos. Assim, foi detectado um total de 107 alelos entre os indivíduos amostrados, com o número de alelos por loco (N_A) variando entre três (HS12; HS18) e oito (HS01) com média de detecção de 5,94 alelos por loco, valor semelhante ao encontrado por Amorim et al. (2015) [39] ao analisar populações remanescentes de mangaba no Nordeste do Brasil. A heterozigosidade observada (H_o) flutuou entre 0,489 (HS18) e 0,889 (HS01), ao passo que a heterozigosidade esperada

(H_E) variou entre 0,652 (HS12) e 0,880 (HS01). Dessa forma, o índice médio de fixação (F) apresentou-se em torno 0,060, sinalizando um leve excesso de homozigotos neste conjunto. Os dezoito marcadores utilizados mostraram-se com alto poder de discriminação de genótipos, como evidenciado pelas probabilidades de identidade e de exclusão, encontrados para os locos estudados [69] (Tabela 1).

Tabela 1. Descritores da variabilidade genética de dezoito marcadores SSR polimórficos na amostra total de 45 acessos adultos.

| Locos | N_A | H_E | H_O | F_{IS} | PI | PE |
|-------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|-------|
| HS01 | 8 | 0,880 | 0,889 | -0,022 | 0,030 | 0,890 |
| HS02 | 6 | 0,833 | 0,667 | 0,190 | 0,060 | 0,820 |
| HS03 | 7 | 0,860 | 0,667 | 0,216 | 0,040 | 0,860 |
| HS04 | 8 | 0,879 | 0,886 | -0,021 | 0,030 | 0,890 |
| HS05 | 8 | 0,861 | 0,841 | 0,012 | 0,040 | 0,870 |
| HS06 | 7 | 0,853 | 0,778 | 0,078 | 0,040 | 0,850 |
| HS07 | 7 | 0,832 | 0,750 | 0,089 | 0,060 | 0,820 |
| HS08 | 7 | 0,862 | 0,867 | -0,017 | 0,040 | 0,860 |
| HS09 | 7 | 0,858 | 0,864 | -0,018 | 0,040 | 0,860 |
| HS10 | 7 | 0,864 | 0,822 | 0,038 | 0,040 | 0,870 |
| HS11 | 4 | 0,749 | 0,622 | 0,160 | 0,120 | 0,670 |
| HS12 | 3 | 0,652 | 0,523 | 0,189 | 0,200 | 0,500 |
| HS13 | 4 | 0,745 | 0,822 | -0,116 | 0,120 | 0,660 |
| HS14 | 5 | 0,769 | 0,682 | 0,103 | 0,100 | 0,710 |
| HS15 | 4 | 0,748 | 0,778 | -0,051 | 0,120 | 0,670 |
| HS16 | 6 | 0,817 | 0,778 | 0,038 | 0,070 | 0,790 |
| HS17 | 6 | 0,828 | 0,867 | -0,058 | 0,060 | 0,810 |
| HS18 | 3 | 0,671 | 0,489 | 0,263 | 0,190 | 0,520 |
| Média | 5,94 | 0,809 | 0,755 | 0,060 | - | - |
| (\pm EP) | (\pm 0,40) | (\pm 0,017) | (\pm 0,029) | (\pm 0,025) | - | - |
| Total | 107 | - | - | - | $3,3 \times 10^{-22}$ | 1,00 |

N_A , número de alelos; H_E , heterozigosidade esperada ou diversidade gênica; H_O , heterozigosidade observada; F_{IS} , índice de fixação; PI, probabilidade de identidade; PE, probabilidade de exclusão; EP, Erro Padrão.

Considerando os atributos de variabilidade em cada grupo, obteve-se as médias do número de alelos polimórficos por loco (A_p), as quantidades de alelos privativos (A_{pr}) a cada conjunto, as médias das heterozigosidades esperadas (H_e), observadas (H_o), bem como as médias do índice de fixação de cada um dos mesmos conforme descrito na tabela 2 a seguir.

Tabela 2. Descritores da variabilidade genética por acesso de *Hancornia speciosa* coletados no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas.

| Acesso | A | N_A | A_p (EP) | A_{pr} | H_E (EP) | H_O (EP) | F_{IS} (EP) |
|------------------|----|-------|----------------------|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Cerrado Rupestre | 19 | 99 | 5,5 (\pm 0,40) | 4 | 0,795 (\pm 0,021) | 0,752 (\pm 0,028) | 0,026 (\pm 0,026) |
| Cerrado Típico | 26 | 103 | 5,7 (\pm 0,40) | 8 | 0,810 (\pm 0,016) | 0,757 (\pm 0,036) | 0,052 (\pm 0,035) |
| Total | 45 | 107 | - | 12 | - | - | - |
| Média (EP) | - | - | - | - | 0,802 (\pm 0,013) | 0,755 (\pm 0,022) | 0,039 (\pm 0,021) |

A, amostra; N_A , número de alelos; A_p , média do número de alelos polimórficos por loco; A_{pr} , alelos privativos; H_E , heterozigosidade esperada ou diversidade gênica; H_O , heterozigosidade observada; F_{IS} , índice de fixação; EP, Erro Padrão.

As médias de alelos polimórficos dos conjuntos Rupestre e Típico, respectivamente, foram de 5,5 e 5,7, apresentando-se, ambas, maiores do que as médias de cinco das seis populações observadas por Amorim et al. (2015) [39] em remanescentes de mangabeira do Nordeste brasileiro. Nogueira et al. (2015) [49] destacaram que é possível inferir a capacidade de adaptação das populações ao ambiente a partir das taxas de polimorfismo por loco em suas amostras, uma vez que o polimorfismo implica em variação genética a qual, por sua vez, está fortemente relacionada ao sucesso da população contra as pressões de seleção.

Quanto às heterozigosidades, os dois grupos populacionais revelaram maiores médias de heterozigosidade esperada (H_e) em comparação à observada, sugerindo um excesso de homozigotos, conforme o esperado para uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que é confirmado pelas médias positivas dos índices de fixação. Os valores encontrados para estes descritores apontam para uma maior diversidade genética nestes remanescentes do PESCAN, em comparação com as populações naturais estudadas por Amorim et al. (2015) [39].

As plantas adultas de mangabeira de cada população apresentaram uma elevada divergência genética, como sugerido pela estimativa da média da distância genética de Roger modificada por Wright [55] de valor 0,646, variando de 0,527 a 0,799 entre as mangabeiras do grupo Rupestre e 0,655, variando de 0,500 a 0,825 entre as mangabeiras do grupo Típico. Já o estudo da dissimilaridade entre estes mesmos grupos, a partir do coeficiente de Roger [54] modificado por Wright [55] resultou em uma baixa distância genética (0,172), indicando uma leve divergência entre eles. A análise molecular de variância (AMOVA) permitiu observar a variação genética entre os indivíduos de mangabeira, bem como entre os grupos populacionais, correspondendo, respectivamente, a cerca de 7% e 1%, enquanto que 92% está organizada dentro dos indivíduos, confirmando a estruturação extremamente baixa observada entre os acessos, e como sugerido pela baixa diferenciação genética revelada pelo F_{ST} igual 0,012 (p-valor= 0,011 para 9999 permutações) confrontado com Wright [55].

Após a análise de agrupamento a partir da metodologia neighbor joining e no sentido de facilitar a identificação de grupos dissimilares, os mesmos foram dispostos de forma cladística conforme a figura 2. Com base nesta figura observa-se a formação de três grupos mistos, com influencias genéticas de ambas populações estudadas, indicando uma expressiva polinização cruzada entre elas, como demonstrada pela taxa de fluxo gênico histórico de $N_m = 21,2$.

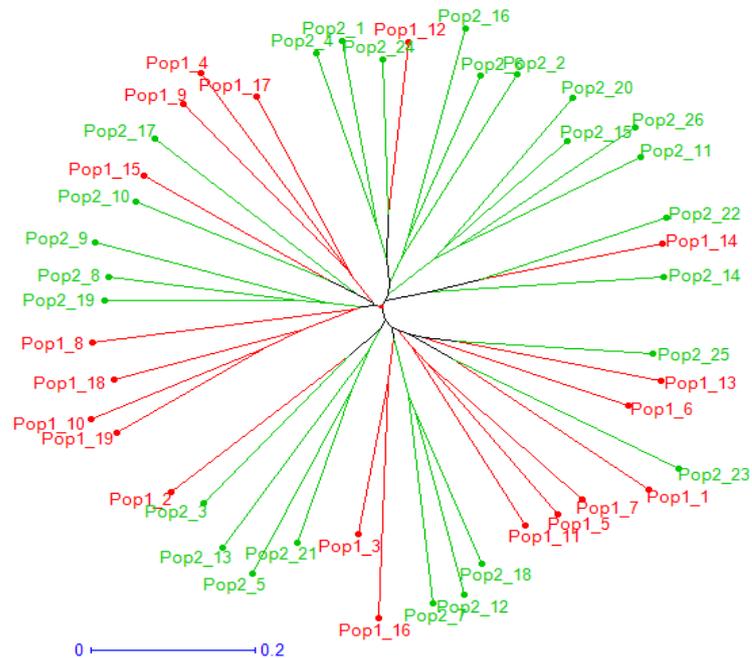


Figura 2. Dendrograma construído a partir da análise de agrupamento por neighbor joining de 45 mangabeiras adultas de duas populações do PESCAN baseado na distância genética de Roger modificada para 18 marcadores microssatélites. As linhas vermelhas definem as plantas coletadas no Cerrado Rupestre e as verdes no Cerrado Típico.

Os grupos identificados pelo dendrograma, quando submetidos à AMOVA, também resultaram em uma fraca estruturação genética ($F_{ST}=0,045$; p -valor=0,000 para 9999 permutações). Consistentemente, a análise de coordenadas principais (PCoA) das 45 mangabeiras organizadas nos dois grupos populacionais confirma essa falta de estruturação ao tempo em que ilustra a ideia de organização espacial mista entre os indivíduos das amostras populacionais. Esses achados sugerem que os indivíduos pertencem a uma única população não estruturada ou em processo inicial de estruturação (Figura 3).

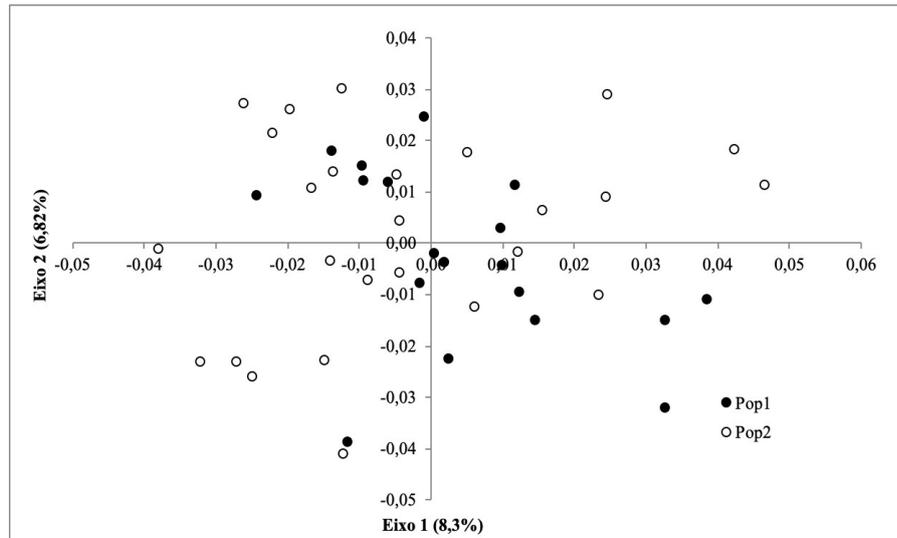


Figura 3. Análise de coordenadas principais de 45 mangabeiras adultas de duas populações do PESCAN baseado na distância genética de Roger modificada. Círculo preenchido define a população Rupestre e círculo vazio a população Típico.

Não diferente da análise de agrupamento baseada nas distâncias genéticas tratadas anteriormente, a análise de estruturação baseada em método bayesiano por meio do *software Structure*, não definiu grupos genéticos distintos, tampouco similares ao padrão de agrupamento observado no ambiente, onde um grupo encontra-se no Cerrado Rupestre e o outro no Cerrado Típico. Já com o auxílio da estimativa de ΔK proposta por Evanno et al. (2005) [59] foi observado um elevado pico para $\Delta K=3$ e um outro pico, de menor amplitude, para $\Delta K=5$, sugerindo uma subestrutura das populações estudadas (Figura 4).

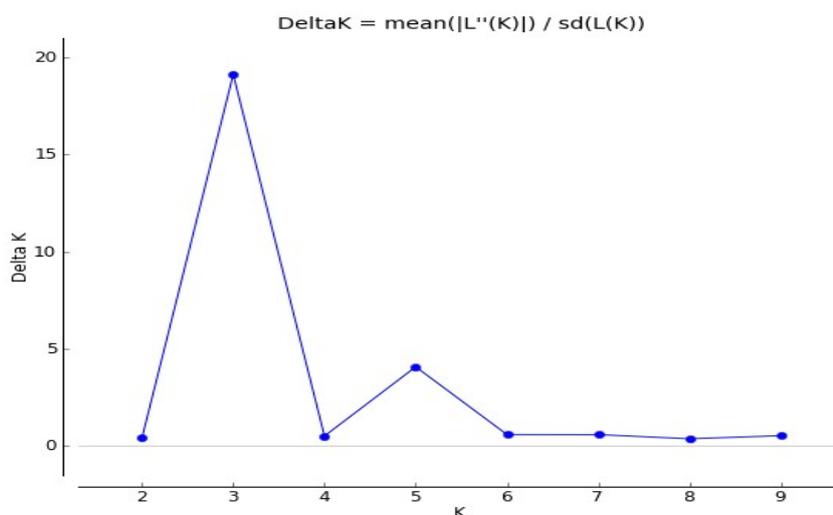


Figura 4. Estimativa do número de grupos genéticos (ΔK) em uma coleção de 45 genótipos de mangabeira coletadas no PESCAN usando o método de Evanno na análise do *Structure*.

Esse resultado reforça a fraca estruturação genética indicada pelo valor de F_{ST} , sugerindo uma expressiva conectividade entre os grupos populacionais. A hipótese dessa conectividade pode ser suportada pela elevada ancestralidade múltipla indicada entre os grupos genéticos inferidos na análise do Structure (Figura 5). Assim, considerando um valor limite do coeficiente de ancestralidade de cada genótipo $q \geq 0,70$, representado pelas cores em cada coluna como a probabilidade de atribuição nos grupos genéticos (Eixo de “y” da figura 5), verificou-se que poucos indivíduos seriam atribuídos a um único grupo genético, constatando-se que as plantas de mangabeiras de ambos os grupos populacionais compartilham, em diferentes níveis, o background genético dos três pools gênicos sugeridos, o que, associado a alta heterozigosidade observada entre eles é compatível com a dependência da troca de gametas entre genótipos distintos para a sua reprodução, conforme se dá em espécies alógamas por autoincompatibilidade.

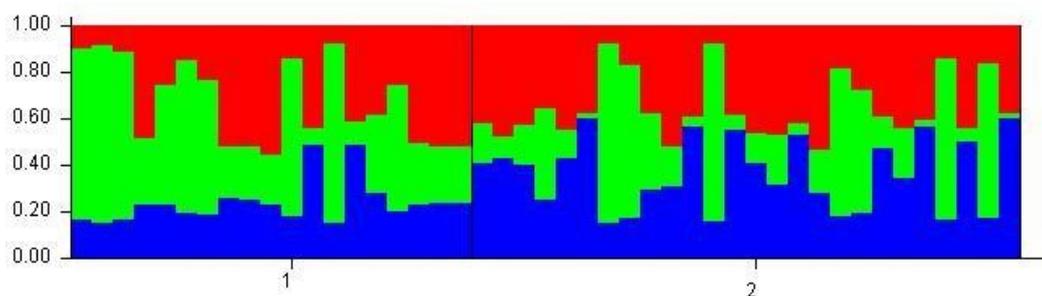


Figura 5. Estrutura genética das 45 plantas de mangabeiras coletadas no PESCAN. As colunas representam os indivíduos analisados; as cores representam a probabilidade de atribuição nos grupos genéticos; o número 1 refere-se ao grupo populacional do Cerrado Rupestre e o número 2 o grupo populacional do Cerrado Típico.

4. CONCLUSÃO

Ambos os grupos populacionais analisados apresentam alta diversidade genética, porém, com maior variabilidade observada dentro de cada grupo.

Os grupos demonstraram uma elevada conectividade, desfazendo qualquer estrutura genética.

A investigação molecular revelou que os grupos Rupestre e Típico funcionam como uma única população ecológica.

A população apresenta locos altamente polimórficos denotando uma boa adaptabilidade ao meio ambiente.

Remanescentes expostos à fragmentação podem iniciar um processo de perda de alelos, o que torna mandatória uma rotina de estudos voltados para acompanhar a dinâmica desta população.

A estrutura genotípica da população mostra-se característica de espécies alógamas ao apresentar alta heterozigosidade e baixo coeficiente de endogamia.

Potenciais impactos às interações ecológicas entre este remanescente de mangabeiras, seus polinizadores e dispersores devido a sua interface com as diversas zonas do interior do PESCAN devem ser investigados a fim de subsidiar a gestão da área.

5. ACKNOWLEDGMENT

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Brasil, pela bolsa de produtividade em pesquisa ao autor IPPM e ao Instituto Federal Goiano pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa.

6. REFERÊNCIAS

- [1] R. A. Mittermeier, F. M. Hoffmann, J. Pilgrim, T. Brooks, P. R. Gil, C. Mittermeier, J. Lamoreux. *Hotspots Revisitados-As Regiões Biologicamente Mais Ricas e Ameaçadas do Planeta. Mata Atlântica e Cerrado*, **Internacional Conservation**, 2005.
- [2] G. Q. D. Almeida, L. J. Chaves, M. D. C. Vieira, R. M. D. Ganga, *Agronomic evaluation of a Hancornia speciosa Gomes germplasm collection from the Brazilian Cerrado*, **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, **19(1)**, 2019, pp. 8-14.
- [3] A. L. da Silva, C. de Souza, L. Eloy, C. J. S. Passos, *Políticas ambientais seletivas e expansão da fronteira agrícola no Cerrado: Impacto sobre as comunidades locais numa Unidade de Conservação no oeste da Bahia/Selective environmental policies and expansion of the agricultural frontier in the Cerrado: impacts on local communities in a Conservation Unit in western Bahia/Politiques environnementales sélectives et expansion de la frontière agricole dans le Cerrado: impacts sur les communautés locales dans une unité de conservation dans l'ouest de Bahia*, **Revista Nera**, **47**, 2019, pp. 321-347.
- [4] C. M. Silva, *Entre Fênix e Ceres: A grande aceleração e a fronteira agrícola no Cerrado*, **Varia Historia**, **34(65)**, 2019, pp. 409-444.
- [5] G M. de Araújo, *Estrutura da comunidade de plantas lenhosas em fragmentos de cerrado: relação com o tamanho do fragmento e seu nível de perturbação*, **Revista Brasil. Bot**, **34(1)**, 2011, pp. 31-38.

- [6] P. Silva, T. Silva, T. Varanda, A. Albuquerque, A. P. Junior, *Proposta de recuperação de área degradada por queimadas no município de Marabá-PA*, **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, **12(3)**, 2018, pp. 08-17.
- [7] E. C. Rocha, D. Brito, J. Silva, P. V. D. S. Bernardo, L. Juen, *Effects of habitat fragmentation on the persistence of medium and large mammal species in the Brazilian Savanna of Goiás State*, **Biota Neotropica**, **18(3)**, 2018.
- [8] E. C. Rocha, J. Silva, P. T. D. Silva, M. D. S. Araújo, A. L. D. S. Castro, *Medium and large mammals in a Cerrado fragment in Southeast Goiás, Brazil: inventory and immediate effects of habitat reduction on species richness and composition*, **Biota Neotropica**, **19(3)**, 2019.
- [9] R. Rajão, B. Soares-Filho, F. Nunes, J. Börner, L. Machado, D. Assis, A. Oliveira, L. Pinto, V. Ribeiro, L. Rausch, H. Gibbs, D. Figueira, *The rotten apples of Brazil's agribusiness- Brazil's inability to tackle illegal deforestation puts the future of its agribusiness at risk*, **Science**, **369(6501)**, 2020, pp. 246-248.
- [10] <https://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/cerrado>
- [11] MAPBIOMAS, *Relatório Anual de Desmatamento 2019*, **MapBiomas**, 2020, link: <https://s3.amazonaws.com/alerta.mapbiomas.org/relatorios/MBI-relatorio-desmatamento-2019-FINAL5.pdf>
- [12] <http://terrabrasilis.dpi.inpe.br/app/dashboard/deforestation/biomes/cerrado/increments>
- [13] E. Kolbert, **A sexta extinção: uma história não natural**, Editora Intrínseca, 2015
- [14] M. Colli-Silva, T. L. Bezerra, G. A. D. C. Franco, N. M. Ivanauskas, F. M. Souza, *Registros de espécies vasculares em unidades de conservação e implicações para a lista da flora ameaçada de extinção no estado de São Paulo*, **Rodriguésia**, **67(2)**, 2016, pp. 405-425.
- [15] J. F. da Silva Junior, D. M. da Mota, A. D. S. Ledo, H. Schmitz, A. D. S. Muniz, R. D. A. Rodrigues. *Mangaba: Hancornia speciosa Gomes*. **Embrapa Amazônia Oriental-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2017.
- [16] M. F. Costa, A. C. D. A. Lopes, R. L. F. Gomes, A. S. F. D. Araújo, M. I. Zucchi, J. B. Pinheiro, S. E. D. S. Valente, *Caracterização e divergência genética de populações de Casearia grandiflora no Cerrado piauiense*. **Floresta e Ambiente**, **23(3)**, 2016, pp. 387-396.
- [17] D. M. de Oliveira, D. S. Cruz, B. A. L. de Freitas, T. N. M. Lima, L. J. Gomes, *Identificação dos pontos críticos no sistema extrativista da mangaba (Hancornia speciosa Gomes) em Sergipe*, **Guaju**, **3(1)**, 2017, pp. 11-36.

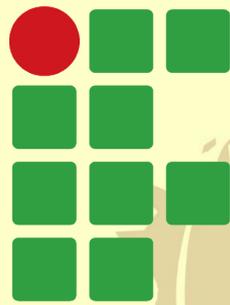
- [18] K. G. Gonçalves, G. S. D. Duarte, A. D. A. Tsukamoto Filho, *Espécies frutíferas do cerrado e seu potencial para os safes*, **Flovet-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, **1(7)**, 2015.
- [19] I. L. P. Lima, A. Scariot, *Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Mangaba*, **Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2010, 68 p.
- [20] A. Miccolis, F. M. Peneireiro, H. R. Marques, D. L. M. Vieira, M. F. Arco-Verde, M. R. Hoffmann, A. V. B. Pereira, *Restauração ecológica com sistemas agroflorestais: como conciliar conservação com produção: opções para Cerrado e Caatinga*, **Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza – ISPN/Centro Internacional de Pesquisa Agorflorestal – ICRAF**, 2016.
- [21] A. K. D. Salman, *Conceitos básicos de genética de populações*, **Documentos 118/ Embrapa Rondônia**. 2007
- [22] D. U. G. Zaruma, D. S. O. Canuto, S. Pupin, J. Cambuim, A. M. Silva, E. S. Mori, M. Moraes, *Variabilidade genética em procedências e progênies de *Dipteryx alata* vogel para fins de conservação genética e produção de sementes*, **Scientia Forestalis**, **43(107)**, 2015, pp. 609-615.
- [23] M. F. Costa, A. C. D. A. Lopes, R. L. F. Gomes, A. S. F. D. Araújo, M. I. Zucchi, J. B. Pinheiro, S. E. D. S. Valente, *Caracterização e divergência genética de populações de *Casearia grandiflora* no Cerrado piauiense*, **Floresta e Ambiente**, **23(3)**, 2016, pp. 387-396.
- [24] C. G. Barreto, V. da Silva Braz, F. G. R. França, *Lições para a Biologia da Conservação no Cerrado a partir dos Padrões de Diversidade Genética Populacional do Anfíbio *Physalaemus cuvieri**, **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, **5(3)**, 2016, pp. 101-119.
- [25] L. G. Cota, M. M. Brandão, P. D. A. Moreira, V. D. A. Royo, A. F. D. M. Júnior, E. V. Menezes, *Structure and genetic diversity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae): a tropical shrub*, **Genetics and Molecular Research**, v. **16**, pp. 1-13. Available: <http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2017/vol16-3/pdf/gmr-16-03-gmr.16039778.pdf>
- [26] A. N. R. Soares, M. F. Vitória, A. L. S. Nascimento, A. D. S. Ledo, A. R. C. Rabbani, A. D. S. Muniz, *Genetic diversity in natural populations of mangaba in Sergipe, the largest producer State in Brazil*, **Genetics and molecular research: GMR** **15(3)**, 2016.
- [27] F. S. Soares, A. A. B. Rossi, B. M. da Silva, J. S. Cochev, S. de Paiva Sobrinho, P. B. da Luz, *Diversity and genetic structure of mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), a fruit species from Cerrado*, **Semina: Ciências Agrárias**, **38(4)**, 2017, pp. 2479-2487.

- [28] D. G. D. Sousa, H. F. D. Cunha, *Population structure, spatial distribution and phenology of Anacardium humile A. St.-Hil.(Anacardiaceae) in cerrado stricto sensu*, **Hoehnea**, **45(3)**, 2018, pp. 450-467
- [29] R. A. Guimarães, K. M. C. Miranda, E. E. S. Mota, L. J. Chaves, M. P. D. C. Telles, T. N. Soares, *Assessing genetic diversity and population structure in a Dipteryx alata germplasm collection utilizing microsatellite markers*, **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, **19(3)**, 2019, pp. 329-336.
- [30] FEMAGO, 2017 Available: http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2017-03/plano_de_manejo_do_parque_estadual_da_serra_de_caldas_novas.pdf
- [31] J. C. dos Reis, J. S. Alves. *Impactos ambientais decorrentes do uso e ocupação do solo na bacia do córrego Água Quente em Rio Quente, Goiás*. **Revista Geoaraguaia**, **7(1)**, (2017).
- [32] R. F. Vieira, T. D. S. Agostini-Costa, D. D. Silva, S. M. Sano, F. R. FERREIRA. *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil*. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, DF, (2010)
- [33] I. M. Bortolotto, G. A. Damasceno-Junior, A. Pott. *Lista preliminar das plantas alimentícias nativas de Mato Grosso do Sul, Brasil*. **Iheringia, Série Botânica**, **73**, 2018, pp. 101-116.
- [34] C. G. Fajardo, D. F. D. Costa, K. P. T. D. Chagas, F. D. A. Vieira. *Genetic diversity in natural populations of Hancornia speciosa Gomes: Implications for conservation of genetic resources*. **Ciência e Agrotecnologia**, **42(6)**, 2018, pp. 623-630.
- [35] R. T. Pinheiro, D. G. Marcelino, D. R. Moura. *Espécies arbóreas de uso múltiplo e sua importância na conservação da biodiversidade nas áreas verdes urbanas de Palmas, Tocantins*. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, **49**, 2018.
- [36] L. D. P. V. D. Silva, J. R. G. Araujo, A. E. Rocha, M. J. N. Carvalho, H. Braun, M. L. R. Mesquita, *Characterization of Mangabeira trees and fruits in the Savannah-Restinga transition zone*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, **39(4)**, 2017.
- [37] A. D. S. Ledo, R. D. Vieira Neto, J. F. da Silva Júnior, A. V. C. da Silva, A. Pereira, E. Pereira, N. Junqueira. *A cultura da mangaba*. **Área de Informação da Sede-Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E)**.
- [38] A. D. S. Arruda, R. Q. D. Faria, N. Peixoto, A. S. F. P. Moreira, J. F. Floriano, C. F. O. Graeff, L. M.D. Almeida. *Avaliação da produção de látex em mangabeiras do cerrado goiano*. **Ciência Florestal**, **26(3)**, 2016, pp. 939-948.

- [39] J. A. E. Amorim, L. R. Mata, A. S. Léo, V. C. R. Azevedo, A. V. C. Silva, *Diversity and genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil*. **Genetics and Molecular Research**, **14(1)**, 2015, pp. 823-833.
- [40] D. F. D. COSTA, F. D. A. VIEIRA, C. G. FAJARDO, K. P. T. D. CHAGAS. *Diversidade genética e seleção de iniciadores ISSR em uma população natural de mangaba (Hancornia speciosa Gomes)(Apocynaceae)*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, **37(4)**, 2015, pp. 970-976.
- [41] N. F. Moura, L. J. Chaves, R. Vencovsky, R. V. Naves, A. V. de Aguiar, M. F. Moura. *Genetic structure of mangaba (Hancornia speciosa Gomes) populations in the cerrado region of central Brazil*. **Bioscience Journal**, **27(3)**, 2011.
- [42] D. L. Hartl, A. G. Clark. *Principles of population genetics*. **Sunderland, MA: Sinauer associates**, v **116**, 1997.
- [43] J. C. Habel, F. E. Zachos, L. Dapporto, D. Roedder, U. Radespiel, A. Tellier, T. Schmitt. *Population genetics revisited—towards a multidisciplinary research field*. **Biological Journal of the Linnean Society**, **115(1)**, 2015, pp. 1-12.
- [44] A. Ali, Y. B. Pan, Q. N. Wang, J. D. Wang, J. L. Chen, S. J. Gao. *Genetic diversity and population structure analysis of Saccharum and Erianthus genera using microsatellite (SSR) markers*. **Scientific reports**, **9(1)**, 2019, pp. 1-10.
- [45] P. D. Tibihika, M. Curto, E. Dornstaeder-Schrammel, S. Winter, E. Alemayehu, H. Waidbacher, H. Meimberg. *Application of microsatellite genotyping by sequencing (SSR-GBS) to measure genetic diversity of the East African Oreochromis niloticus*. **Conservation Genetics**, **20(2)**, 2019, pp. 357-372.
- [46] R. Donde, J. Kumar, G. Gouda, M. K. Gupta, M. Mukherjee, S. Y. Baksh, S. K. Dash. *Assessment of genetic diversity of drought tolerant and susceptible rice genotypes using microsatellite markers*. **Rice Science**, **26(4)**, 2019, pp. 239-247.
- [47] A. Owati, B. Agindotan, M. Burrows. *First microsatellite markers developed and applied for the genetic diversity study and population structure of Didymella pisi associated with ascochyta blight of dry pea in Montana*. **Fungal biology**, **123(5)**, 2019, pp. 384-392.
- [48] D. Grattapaglia, M. Ferreira. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. **EMBRAPA, Brasília**, **3**, 1998.
- [49] C. A. Nogueira, N. B. Stafuzza, T. P. Ribeiro, A. D. L. Prado, N. Peixoto, I. P. P. Menezes, L. M. D. Almeida. *Intraspecific differentiation of Hancornia speciosa revealed*

- by simple sequence repeat and random amplified polymorphic DNA markers. **Genetics and Molecular Research** **14 (4)**, 2015, pp. 15996-16005.
- [50] R. S. D. Silva, A. E. Rocha, M. J. N. Carvalho, R. M. D. Reis, M. C. C. D. A. Costa. *Levantamento da estrutura da vegetação de Hancornia speciosa Gomes no Projeto de Assentamento Rio Pirangi, Morros-MA.* **Cadernos de Agroecologia**, **13(1)**, 2018.
- [51] A. J. L. Rodrigues, A. T. Yamaguishi, L. J. Chaves, A. S. G. Coelho, J. D. S. Lima, M. P. D. C. Telles. *Development of microsatellite markers for Hancornia speciosa Gomes (Apocynaceae).* **Genetics and Molecular Research**, **14(3)**, 2015, pp. 7274-7278.
- [52] S. Creste, A. T. Neto, A. Figueira. *Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining.* **Plant Molecular Biology Reporter**, **19(4)**, 2001, pp. 299-306.
- [53] R. Peakall, P. E. Smouse. *GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update.* **Bioinformatics**, **28(19)**, 2012 pp. 2537-2539.
- [54] J.S. Rogers. *Measures of genetic similarity and genetic distance.* In.: _____. **Studies in Genetics VII**. Austin: University of Texas. 1972. pp.145-154.
- [55] S. Wright. *Evolution and the genetics of populations, Variability within and among natural populations, v. 4*, 1978, pp. 1-580.
- [56] A. S. G. Coelho. *Avaliação de dendrogramas baseados em estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap.* Versão 3.0. Goiânia:Departamento de Biologia Geral, Instituto de CiênciasBiológicas, Universidade Federal de Goiás, 2001
- [57] X. Perrier, J. P. Jacquemoud-Collet, *DARwin software.* 2006., 20015.
- [58] J. K. Pritchard, M. Stephens, P. Donnelly. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, **155(2)**, 2000, 945-959.
- [59] G. Evanno, S. Regnaut, J. *Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study.* **Molecular ecology**, **14(8)**, 2005, pp. 2611-2620.
- [60] D. A. Earl, B. M. VonHoldt. *Structure Harvester v. 0.6.5* [online].
- [61] H. G. dos Santos, P. K. T. Jacomine, L. H. C. dos Anjos, V. A. de Oliveira, J. F. Lumbreras, M. R. Coelho, T. J. F. Cunha. *Sistema brasileiro de classificação de solos.* **Brasília, DF: Embrapa**, 2018.

- [62] R. M. D. Ganga, G. A. Ferreira, L. J. Chaves, R. V. Naves, J. L. D. Nascimento. *Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de Hancornia speciosa Gomes do cerrado*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, **32(1)**, 2010, pp. 101-113.
- [63] O. Menino, F. G. Silva. *Fenologia de Hancornia speciosa GOMES (APOCYNACEAE) em Montes Claros de Goiás, Brasil*. **Enciclopédia Biosfera**, **15(27)**, 2018, p. 8.
- [64] N. A. L. Pilon, R. G. Udulutsch, G. Durigan. *Padrões fenológicos de 111 espécies de Cerrado em condições de cultivo*. **Hoehnea**, **42(3)**, 2015, pp. 425-443.
- [65] J. C. Dalponte, E. D. S. Lima. *Disponibilidade de frutos e a dieta de Lycalopex vetulus (Carnivora-Canidae) em um cerrado de Mato Grosso, Brasil*. **Brazilian Journal of Botany**, **22**, pp. 325-332.
- [66] <<http://www.seb-ecologia.org.br/revistas/indexar/anais/viiiiceb/pdf/2018.pdf>>
- [67] J. Monachino, *A revision of Hancornia (Apocynaceae)*, **Lilloa**, **11**, 1945, pp. 19-48.
- [68] R. R. de Faria, M.E. Costa. *A inserção dos veículos aéreos não tripuláveis (drones) como tecnologia de monitoramento no combate ao dano ambiental*. **Revista Ordem Pública**, **8(1)**, 2015, pp. 81-103.
- [69] D. Paetkau, W. Calvert, I. Stirling, C. Strobeck. *Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears*. **Molecular ecology**, **4(3)**, 1995, pp. 347-354.



INSTITUTO FEDERAL

Goiano

Campus
Urutaí

